

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A TECHNOLOGIE

**SYNTEZA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH DUSÍKATÝCH DERIVÁTŮ
TŘÍ- AŽ PĚTIČLENNÝCH KARBOCYKLICKÝCH SLOUČENIN**

DISERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Ing. Eva Horáková

VEDOUCÍ PRÁCE: doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

PARDUBICE 2019

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

**SYNTHESIS OF BIOLOGICAL ACTIVE NITROGEN DERIVATIVES OF
THREE- TO FIVE-MEMBERED CARBOCYCLIC COMPOUNDS**

DISSERTATION

AUTHOR: Ing. Eva Horáková

SUPERVISOR: Assoc. Prof. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

PARDUBICE 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 12. 3. 2019

Ing. Eva Horáková

.....

„Ničeho se v životě nemusíme bát – jen to pochopit!“

Marie Curie-Sklodovská

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. Ing. Pavlu Drabinovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady a nesmírnou trpělivost, kterou mi věnoval nejen při realizaci této práce, ale po celou dobu studia. Velký dík patří také celému kolektivu Ústavu Organické Chemie a Technologie, v čele s prof. Ing. Milošem Sedlákem, DrSc. Zejména pak Gabriele Novákové, skvělé kolegyni, spolubydlící a kamarádce, která měla pochopení, i když chemie „neposlouchala“.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat svým rodičům a blízkým za neuvěřitelnou podporu, důvěru a lásku, kterou mi věnovali v průběhu celého vysokoškolského studia. Zvláštní dík patří mému příteli Slávkovi za to, že to se mnou vydržel až do konce.

SOUHRN

Tato disertační práce se skládá z teoretické a experimentální části. Úvod je věnován přípravě biologicky aktivních nebo potenciálně biologicky aktivních látek s využitím nitroaldolové kondenzace a cyklopropanační reakce. Vzhledem k významu asymetrické syntézy léčivých látek, je tato rešeršní část zaměřena na chirální katalyzátory, a to zejména chirální komplexy mědi, které se v této oblasti používají. V teoretické části je rovněž kapitola zabývající se inhibicemi cholinesteráz a uplatnění potenciálních inhibitorů jako léčivých substancí pro léčbu Alzheimerovy choroby.

Experimentální část se zaměřuje na studium asymetrické inter- a intramolekulární Henryho reakce, pro přípravu biologicky aktivních β -nitroalkoholů. V rámci této práce bylo připraveno 6 nových ligandů, odvozených od 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů. Jejich měďnaté komplexy byly testovány jako chirální katalyzátory asymetrické inter- a intramolekulární Henryho reakce. Nejúčinnější derivát byl použit pro přípravu klíčového meziprojektu v syntéze léčiva Salmeterolu. Dále byla studována stereoselektivní intramolekulární Henryho reakce pro přípravu substituovaných 2-nitroindan-1-olů, zejména pak vliv použitého rozpouštědla a báze. Další významnou kapitolou je studium cyklopropanační reakce a její asymetrické verze, pro přípravu série karbamátů odvozených od léčiva Tranlylcyprominu. Většina těchto karbamátů dosud nebyla popsána a žádný z nich nebyl testován jako potenciální inhibitor cholinesteráz. Pro všechny karbamáty, jako potenciální inhibitory cholinesteráz, byly provedeny *in vitro* biologické studie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Henryho reakce; β -nitroalkoholy; deriváty imidazolidin-4-onů; měďnaté komplexy; karbamáty; inhibitory cholinesteráz; deriváty cyklopropanu; *in vitro* biologické studie

SUMMARY

This dissertation consists of a theoretical and experimental part. Introduction describes the preparation of biologically active or potentially biologically active substances using nitroaldol condensation or cyclopropanation reaction. Due to the importance of asymmetric synthesis for preparation of medicinal substances in non-racemic form, this research is focused on chiral catalysts, especially the chiral copper complexes used in this field. The theoretical part also includes a chapter dealing with the inhibition of cholinesterases and the use of potential inhibitors as healing substances for the treatment of Alzheimer's disease.

The experimental part focuses on the study of the asymmetric inter- and intramolecular Henry reaction, affording chiral β -nitroalcohols, which represent the intermediates for preparation of biologically active substances. Six new chiral ligands derived from 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-ones and their copper(II) complexes were prepared and studied as chiral catalysts for asymmetric inter- and intramolecular Henry reactions. The most effective derivative was used for preparation of a key intermediate in the synthesis of Salmeterol. In addition, stereoselective intramolecular Henry reaction affording substituted 2-nitroindan-1-ols was studied, particularly the effect of the solvent and used base. Another part of dissertation targets on cyclopropanation reaction and its asymmetric version, for the preparation of a series of carbamates derived from the human drug Tranylcypromine. Most of these carbamates were prepared as a new compounds. All of them were tested as a potential inhibitors of cholinesterases and their cytotoxicity was determined.

KEYWORDS

Henry reaction; β -nitroalcohol; imidazolidine-4-one derivatives; copper complexes; carbamates; cholinesterases inhibitors; cyclopropane derivatives; *in vitro* biological studies

OBSAH

1 ÚVOD	13
1.1 NITROALDOLOVÁ (HENRYHO) REAKCE	13
1.2 ASYMETRICKÁ CYKLOPROPANAČNÍ REAKCE	15
2 TEORETICKÁ ČÁST	17
2.1 ASYMETRICKÁ HENRYHO REAKCE KATALYZOVANÁ CHIRÁLNÍMI KOMPLEXY MĚDI V HOMOGENNÍM PROSTŘEDÍ	17
2.2 STEREOSELEKTIVNÍ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE	20
2.3 ASYMETRICKÁ CYKLOPROPANAČNÍ REAKCE KATALYZOVANÁ CHIRÁLNÍMI KOMPLEXY MĚDI V HOMOGENNÍM PROSTŘEDÍ	29
2.4 INHIBICE CHOLINESTERÁZ	34
2.4.1 ACETYLCHOLIN A JEHO FUNKCE V CHOLINERGNÍM SYSTÉMU.....	34
2.4.2 CHOLINESTERÁZY	34
2.4.3 INHIBITORY CHOLINESTERÁZ	36
2.4.4 ALZHEIMEROVA CHOROBA (AD).....	37
2.4.5 STANOVENÍ INHIBIČNÍ AKTIVITY IC_{50} A ROZDĚLOVACÍHO KOEFICIENTU P_{ow}	38
2.5 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	40
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	41
3.1 PŘÍPRAVA (S)-A-METHYL-TERC-LEUCINAMIDU ((S)-6) A (S)-TERC-LEUCINAMIDU ((S)-7)	42
3.1.1 (±)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANNITRIL ((±)-1)	42
3.1.2 (±)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANNITRIL ((±)-2)	42
3.1.3 (±)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÁ KYSELINA ((±)-3)	43
3.1.4 (-)-CHININOVÁ SŮL (S)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY ((-)-4)	43
3.1.5 (S)-2-ACETAMIDO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÁ KYSELINA ((S)-3) ^[276]	44
3.1.6 HYDROCHLORID (S)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANOVÉ KYSELINY ((S)-5) ^[276] ..	45
3.1.7 (S)-2-AMINO-2,3,3-TRIMETHYLBUTANAMID ((S)-6) ^[276]	45
3.1.8 (S)-2-AMINO-3,3-DIMETHYLBUTANAMID ((S)-7) ^[276]	46

3.2	OBECNÝ POSTUP PŘÍPRAVY 5-<i>TERC</i>-BUTYL-2-(2-PYRIDIN-2-YL)IMIDAZOLIDIN-4-ONOVÝCH LIGANDŮ (8–10)	46
3.2.1	(<i>S</i>)-2-(<i>N</i> -PYRIDYLMETHYLIMINO)-2,3,3-TRIMETHYLBUTANAMID (11).....	48
3.3	OBECNÝ POSTUP PRO ASYMETRICKOU HENRYHO REAKCI	49
3.4	PŘÍPRAVA 2-NITROINDAN-1-OLŮ 23–25 INTER/INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCÍ	53
3.4.1	PŘÍPRAVA 1-BROM-2-(DIMETHOXYMETHYL)BENZENU (12).....	53
3.4.2	PŘÍPRAVA 2-(DIMETHOXYMETHYL)BENZALDEHYDU (13).....	53
3.4.3	OBECNÝ POSTUP PŘÍPRAVY 1-(DIMETHOXYMETHYL)-2-(2-NITROALKEN-1-YL)BENZENŮ (14–16)	54
3.4.4	OBECNÝ POSTUP PŘÍPRAVY 1-(DIMETHOXYMETHYL)-2-(2-NITROALKYL)BENZENŮ (17–19).....	55
3.4.5	OBECNÝ POSTUP PŘÍPRAVY 2-(2-NITROALKYL)BENZALDEHYDŮ (20–22)	56
3.4.6	OBECNÝ POSTUP PŘÍPRAVY 2-NITROINDAN-1-OLŮ (23–25)	57
3.5	PŘÍPRAVA 2-AMINOINDAN-1-OLŮ (26–28)	58
3.6	OBECNÝ POSTUP ¹H NMR STUDIE CYKLIZACE LÁTEK 20–22 V NMR KYVETĚ	59
3.7	ASYMETRICKÁ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE	59
3.7.1	ASYMETRICKÁ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE KATALYZOVANÁ MĚĎNATÝM KOMPLEXEM CU(II)/(2R,5S)- 8	59
3.7.2	ASYMETRICKÁ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE KATALYZOVANÁ MĚĎNATÝM KOMPLEXEM CUCL ₂ /(+)-SPARTEIN	60
3.7.3	ASYMETRICKÁ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE - KINETICKÁ REZOLUCE ...	60
3.7.4	ASYMETRICKÁ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE – INKLUZE REAKTANTŮ DO B-CYKLODEXTRINU	61
3.7.5	2-(2-NITROPROP-2-EN-1-YL)BENZALDEHYD (29).....	61
3.7.6	REDUKTIVNÍ NITROALDOLOVÁ KONDENZACE	62
3.8	PŘÍPRAVA <i>CIS</i>/<i>TRANS</i>-(±)-ETHYL-2-FENYLCYKLOPROPANKARBOXYLÁTU (30)	62
3.9	PŘÍPRAVA (±)-<i>TRANS</i>-ETHYL-2-(4-HALOGENFENYL)CYKLOPROPANKARBOXYLÁ-TŮ ((±)-31–33)	63
3.10	PŘÍPRAVA OPTICKY ČISTÝCH ETHYL ESTERŮ 2-FENYLCYKLOPROPAN-1-KARBOXYLOVÉ KYSELINY (30)	63
3.11	PŘÍPRAVA (±)-<i>TRANS</i>-2-FENYLCYKLOPROPAN-1-KARBOXYLOVÉ KYSELINY ((±)-34)	65
3.12	PŘÍPRAVA 2-FENYLCYKLOPROPAN-1-KARBOXYLOVÝCH KYSELIN (34–37)	65

3.13	PŘÍPRAVA (±)-<i>TRANS</i>-2-(4-JODFENYL)CYKLOPROPAN-1-KARBOXYLOVÉ KYSELINY ((±)-38).....	67
3.14	PŘÍPRAVA <i>O</i>-ALKYL-<i>N</i>-(2-FENYLCYKLOPROPYL)KARBAMÁTŮ 39–62.....	68
3.15	PŘÍPRAVA (±)-<i>TRANS-O-TERC</i>-BUTYL-<i>N</i>-(2-(4-HALOGENFENYL)CYKLOPROPYL) KARBAMÁTŮ (±)-55–58.....	76
3.16	PŘÍPRAVA <i>O</i>-ALKYL-<i>N</i>-(1-FENYLCYKLOALKYL)KARBAMÁTŮ 59–63.....	77
3.17	PŘÍPRAVA KARBAMÁTŮ 64–66.....	79
3.18	PŘÍPRAVA <i>CIS/TRANS</i>-3-FENYLCYKLOBUTYLAMINU (69).....	80
3.19	PŘÍPRAVA <i>O-TERC</i>-BUTYL-<i>N</i>-ALKYLKARBAMÁTŮ ODVOZENÝCH OD SUBSTITUOVANÝCH AMINŮ 70–72	82
3.20	PŘÍPRAVA <i>O</i>-GLYKOSYL-<i>N</i>-(3,4-DICHLORFENYL)KARBAMÁTŮ A <i>O</i>-GLYKOSYL-<i>N</i>-(3-(TRIFLUORMETHYL)FENYL)KARBAMÁTŮ 73–78.....	83
3.21	PŘÍPRAVA KARBAMÁTŮ 79–84.....	87
3.22	STANOVENÍ PARAMETRŮ IC₅₀ A LOG<i>P</i>_{ow} INHIBITORŮ CHES.....	89
3.22.1	STANOVENÍ INHIBIČNÍ AKTIVITY STUDOVANÝCH KARBAMÁTŮ	89
3.22.2	STANOVENÍ HODNOTY LOG <i>P</i> _{ow}	90
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	91
4.1	STUDIUM ASYMETRICKÉ INTER- A INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE PRO PŘÍPRAVU KLÍČOVÝCH MEZIPRODUKTŮ V SYNTÉZE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK... 91	
4.2	INTERMOLEKULÁRNÍ ASYMETRICKÁ HENRYHO REAKCE KATALYZOVANÁ MĚĎNATÝMI KOMPLEXY 5-<i>TERC</i>-BUTYL-2-(PYRIDIN-2-YL)IMIDAZOLIDIN-4-ONŮ 8–10 . 91	
4.2.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE SUBSTITUOVANÝCH 5- <i>TERC</i> -BUTYL-2-(PYRIDIN-2-YL)IMIDAZOLIDIN-4-ONŮ (8–10).....	92
4.2.2	STUDIUM KATALYTICKÝCH VLASTNOSTÍ MĚĎNATÝCH KOMPLEXŮ SUBSTITUOVANÝCH 5- <i>TERC</i> -BUTYL-2-(PYRIDIN-2-YL)IMIDAZOLIDIN-4-ONŮ 8–10	94
4.3	STUDIUM ASYMETRICKÉ INTRAMOLEKULÁRNÍ HENRYHO REAKCE PRO PŘÍPRAVU SUBSTITUOVANÝCH 2-NITROINDAN-1-OLŮ 23–25	100
4.3.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE SUBSTITUOVANÝCH 2-NITRO- 23–25 RESP. 2-AMINOINDAN-1-OLŮ 26–28	100
4.3.2	DIASSTEREOSELEKTIVNÍ PŘÍPRAVA SUBSTITUOVANÝCH 2-NITROINDAN-1-OLŮ 23–25	103
4.3.3	ENANTIOSELEKTIVNÍ PŘÍPRAVA 2-NITRO-2-METHYLINDAN-1-OLU (24).....	112

4.4	PŘÍPRAVA, CHARAKTERIZACE A <i>IN VITRO</i> BIOLOGICKÉ STUDIE <i>N</i>-CYKLOALKYLKARBAMÁTŮ A <i>N</i>-FENYLKARBAMÁTŮ JAKO POTENCIÁLNÍCH INHIBITORŮ CHOLINESTERÁZ.....	117
4.5	<i>N</i>-(2-FENYLCYKLOPROPYL)KARBAMÁTY 39–54 A 64–66.....	118
4.5.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE KARBAMÁTŮ 39–54 A 64–66.....	119
4.5.2	BIOLOGICKÉ <i>IN VITRO</i> STUDIE KARBAMÁTŮ 39–54 A 64–66.....	123
4.5.3	4.5.2.3 <i>IN VITRO</i> CYTOTOXICKÉ STUDIE KARBAMÁTŮ 39–54 A 64–66.....	125
4.6	SÉRIE KARBAMÁTŮ 55–63 A 70–72.....	128
4.6.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE KARBAMÁTŮ 55–63 A 70–72.....	130
4.6.2	BIOLOGICKÉ <i>IN VITRO</i> STUDIE KARBAMÁTŮ 55–63 A 70–72.....	132
4.7	<i>O</i>-GLYKOSYL-<i>N</i>-FENYLKARBAMÁTY 73–84.....	134
4.7.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE KARBAMÁTŮ 73–84.....	137
4.7.2	BIOLOGICKÉ <i>IN VITRO</i> STUDIE KARBAMÁTŮ 73–84.....	138
5	ZÁVĚR	141
6	LITERATURA	143
7	PŘÍLOHY	155

SEZNAM ZKRATEK

Ac	acetyl
acac	acetylaceton
ACh	acetylcholin
AChE	acetylcholinesteráza
AChR	acetylcholinový receptor
mAChR	muskarinový acetylcholinový receptor
nAChR	nikotinový acetylcholinový receptor
AD	Alzheimerova choroba
Am	amyl, <i>n</i> -pentyl
Ar	aryl
ATCh	acetylthiocholin
BChE	butyrylcholinesteráza
BHT	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-methylfenyl
[BMIM][BF ₄]	1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborát
Bn	benzyl
BINAP	2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-naftalen
BINOL	1,1'-bi-2-naftol
Boc	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
Bu	butyl
CNS	centrální nervový systém
CoA	koenzym A
DABCO	diazabicyklooktan
DBU	diazabicykloundecen
DCHM	dicyklohexylmethyl
DFT	teorie funkcionálu hustoty (<i>density functional theory</i>)
DHB	2,5-dihydroxybenzoová kyselina
DIBAL	diisobutylaluminium hydrid
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DP	diplová práce
DPPA	difenylfosforylazid
DTNB	kyselina 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoová, Ellmanovo činidlo
<i>ee</i>	enantiomerní přebytek (<i>enantiomeric excess</i>)
Et	ethyl
EWG	elektron-akceptorní skupina (<i>electron-withdrawing group</i>)
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostním detektorem
Hex	hexyl
HMPA	hexamethylfosforamid
HPLC	vysoce-účinná kapalinová chromatografie (<i>high-performance liquid chromatography</i>)
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením

Ch	cholin
ChE	cholinesteráza
ChEI	inhibitor cholinesterázy
IC ₅₀	koncentrace způsobující 50% inhibici zkoumané aktivity
<i>m</i> -	<i>meta</i> (poloha 1,3-)
M	kov (metal)
MALDI	desorpce/ionizace laserem za účasti matrice (<i>matrix-assisted desorption/ionization</i>)
MAO	monoaminoxidáza
Me	methyl
MS	hmotnostní spektroskopie
M.S.	molekulové síto
<i>o</i> -	<i>ortho</i> (poloha 1,2-)
NCA	<i>N</i> -karboxyanhydrid
NMF	<i>N</i> -methylnorfolin
NMR	nukleární magnetická rezonance
Np	neopentyl; 2,2-dimethylpropan-1-ol
<i>p</i> -	<i>para</i> (poloha 1,4-)
PBS	fosfátový pufr (phosphate buffered saline)
PF ₆	hexafluorofosfát
PG	chránící skupina (protected group)
PNS	periferní nervový systém
PPA	pyrofosforečná kyselina, difosforečná kyselina
<i>P</i> _{ow}	rozdělovací koeficient <i>n</i> -oktanol/voda – poměr koncentrací látky rozpuštěné ve dvousložkovém systému oktanol/voda
Pr	propyl
PST	pancratistatin
Py	pyridin
PYBOX	pyridin-2,6-bis(oxazolin)
TBAF	tetrabutylamonium-fluorid
TC	thiofen-2-karboxylát
TEA	triethylamin
Tf	triflyl, trifluormethansulfonyl
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
Tol	tolyl
Tr	trityl, trifenylmethyl
Ts	tosyl, <i>p</i> -toluensulfonyl
TsOH	<i>p</i> -toluensulfonová kyselina
TTX	tetrodotoxin

1 Úvod

1.1 Nitroaldolová (Henryho) reakce

Nitroaldolová (Henryho)^[1] reakce patří, již od roku 1895, mezi základní reakce organické syntézy pro tvorbu vazby uhlík – uhlík. Jedná se o bazicky katalyzovanou adici nukleofilu, generovaného *in situ* z nitroalkanu s α -vodíky, na elektrofilní karbonylovou skupinu (**Schéma 1**).^[1–8] Výslednými produkty této reakce, pokud je prováděna za mírných podmínek, jsou β -nitroalkoholy. Ty jsou důležitými a užitečnými intermediáty v organické syntéze a mohou ve své molekule obsahovat až dvě nová asymetrická centra. Při nestereoselektivní Henryho reakci tak vzniká směs diastereoizomerů a enantiomerů v poměru 1:1. Stereoselektivitu reakce komplikuje fakt, že reakce je vratná a může tak docházet k epimerizaci na nitro-substituovaném uhlíku.^[9,10]

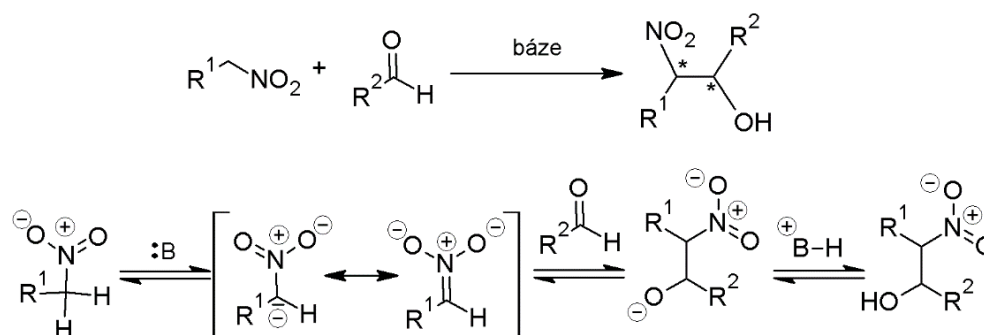


Schéma 1 Mechanismus nitroaldolové kondenzace

Výsledné β -nitroalkoholy mohou být převedeny na mnoho synteticky užitečných meziproductů, vhodných pro přípravu velkého množství přírodních nebo biologicky aktivních látek.^[9–12] Mezi typické transformace β -nitroalkoholů patří oxidace, dehydratace, redukce nebo Nefova reakce^[13] vedoucí např. k α -nitroketonům,^[14] ketonům,^[15] nitroalkenům,^[15,16] β -aminoalkoholům^[17] a alkanům,^[18] které našly široké využití v syntéze komplexnějších molekul (**Schéma 2**).^[19–26]

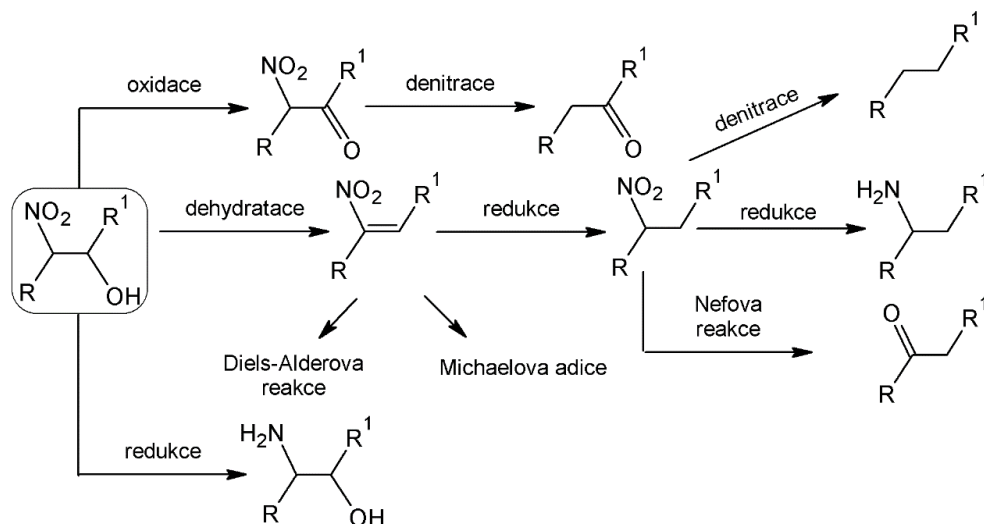
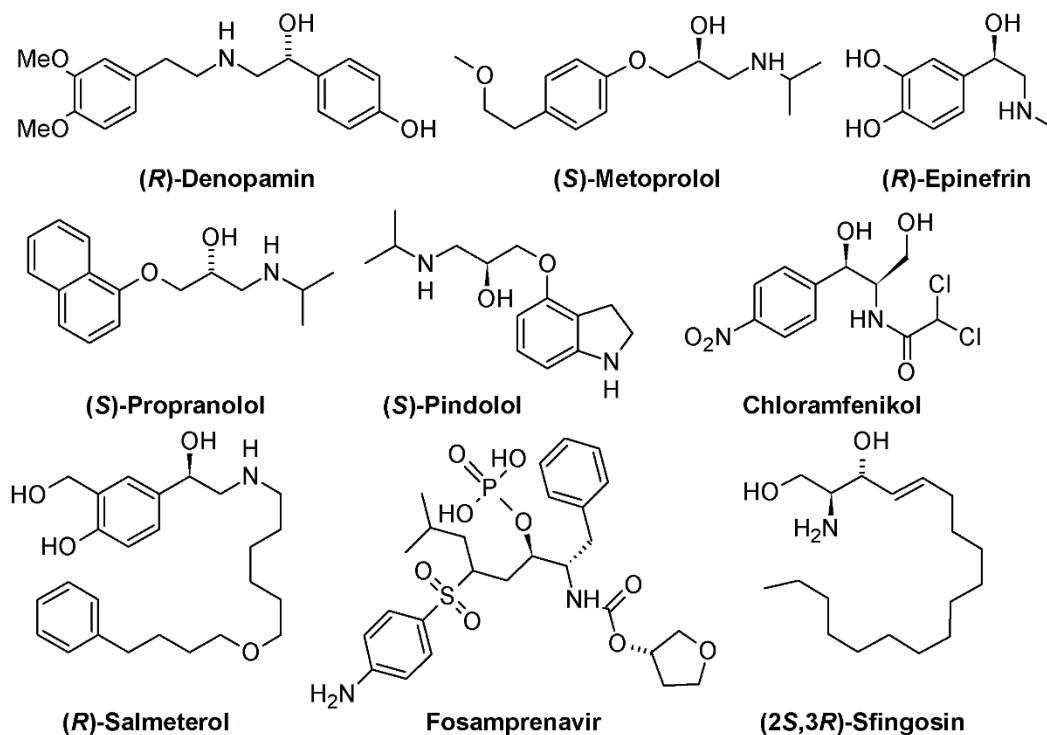


Schéma 2 Typické transformace β -nitroalkoholů

Nitrosloučeniny našly významné uplatnění v oblasti medicínální chemie, a to zejména nitroalkany a nitroalkeny, které jsou důležitými stavebními bloky pro syntézu léčiv. Tyto poznatky jsou shrnuty v přehledném článku z roku 2016.^[27] K nejvýznamnějším derivátům se řadí chirální β -aminoalkoholy, které můžeme najít v mnoha léčivých a přírodních substancích jako např. (*R*)-Denopamin,^[28] (*S*)-Metoprolol,^[29] (*R*)-Epinefrin,^[11] (*S*)-Propranolol,^[29] (*S*)-Pindolol,^[30] (*R*)-Salmeterol,^[31] Chloramfenikol,^[32] Fosamprenavir,^[33] Sfingosin,^[33,34] aj.^[35–38] (**Obr. 1**).

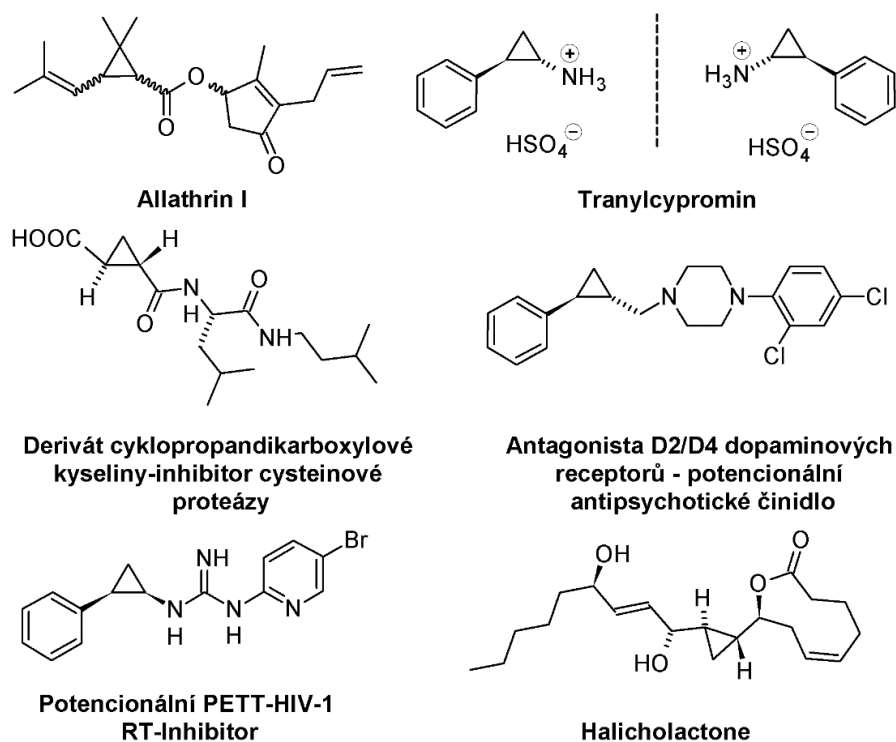


Obr. 1 Léciva nebo přírodní látky obsahující β -aminoalkoholovou část

Význam Henryho reakce a její asymetrické verze dokládá, mimo jiné, také množství publikací shrnující pokroky v této oblasti za posledních 25 let.^[3,5,39–48]

1.2 Asymetrická cyklopropanační reakce

Od první syntézy derivátů cyklopropanu^[49] uplynulo více než 100 let, přesto cyklopropanový skelet stále fascinuje nejen organické chemiky.^[50–62] Přítomnost cyklopropanového kruhu v molekule, který je díky omezeným stupňům volnosti rigidní, významně ovlivňuje sterické a stereoelektronické vlivy těchto látek, což z nich dělá univerzální nástroj pro studium regio-, diastereo- a enantioselektivity.^[63] Současně je cyklopropanový kruh součástí mnoha biologicky významných látek jako jsou terpeny, feromony, mastné kyseliny a neobvyklé aminokyseliny.^[62,64–67] Tyto látky vykazují široké spektrum biologických vlastností včetně inhibiční aktivity vůči enzymům, insekticidní vlastnosti, antifungální, herbicidní, antimikrobiální, antibiotické, antibakteriální, protinádorové a antivirotické vlastnosti.^[68–70] Na **obrázku 2** jsou uvedeny příklady sloučenin obsahující cyklopropanový skelet s výraznou biologickou aktivitou: insekticidy na bázi pyrethroidů (např. Allathrin D),^[71] antidepresivum Tranylcypromin,^[72] potenciální inhibitory papainových a cysteinových proteáz,^[73] sloučenina s antipsychotickým účinkem^[74] inhibitor reversní transkriptázy (léčivo HIV)^[75] a inhibitor lipoxygenázy Halicholactone.^[76]



Obr. 2 Významné sloučeniny obsahující cyklopropanový skelet

Biologický význam cyklopropanových derivátů inspiroval řadu organických chemiků k nalezení nových a různorodých přístupů k jejich syntéze. V minulých letech byly připraveny tisíce sloučenin obsahující cyklopropanový skelet.^[77–81] Vzhledem k tomu, že mnohé přírodní a biologicky aktivní látky jsou chirální, a deriváty cyklopropanu nejsou výjimkou, je nejvýznamnějším aspektem přípravy cyklopropanového kruhu asymetrická cyklopropanační reakce.

Většina cyklopropanačních reakcí vychází z reaktivního karbenu, který se aduje na násobnou vazbu alkenů (**Schéma 3**). Příkladem může být Simmons–Smithova reakce **(1)**^[82] nebo rozklad diazoniových sloučenin přechodným kovem **(2)**^[83]. Jiný syntetický přístup představuje nukleofilní adice Michaelovského typu a následná intramolekulární cyklizace **(3 a 4)**.^[84]

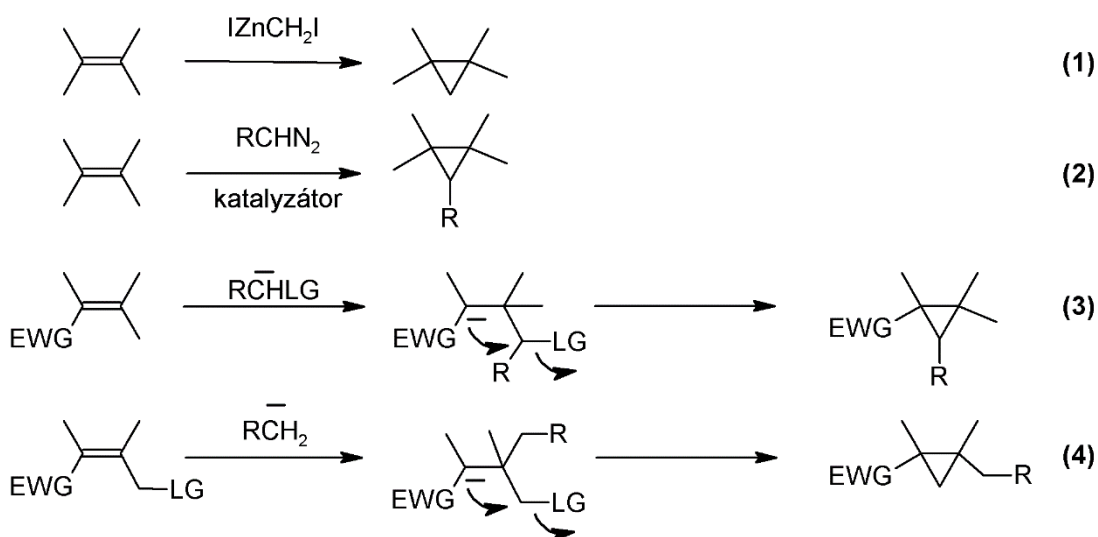


Schéma 3 Cyklopropanační reakce

Neracemické deriváty cyklopropanu lze získat všemi typy asymetrické syntézy: tj. a) s využitím chirálních pomocných činidel; b) katalýzou chirálními organokovovými sloučeninami; c) chirální organokatalýzou; d) enzymatickou katalýzou. Každý z těchto přístupů má své výhody i nevýhody, které jsou shrnuty v mnoha publikacích a přehledných člancích.^[67,85–90] V této rešeršní části práce jsem se zaměřila na asymetrickou cyklopropanační reakci katalyzovanou nejúčinnějšími a univerzálně používanými chirálními komplexy mědi v homogenním prostředí.

2 Teoretická část

2.1 Asymetrická Henryho reakce katalyzovaná chirálními komplexy mědi v homogenním prostředí

Komplexní podmínky pro stereoselektivní Henryho reakci formuloval Seebach a kol. již kolem roku 1980 (**Schéma 4**).^[91,92] Autoři vytvořili tři metody (**A**, **B**, **C**), které selektivně vedou k *syn* a *anti* izomerům.

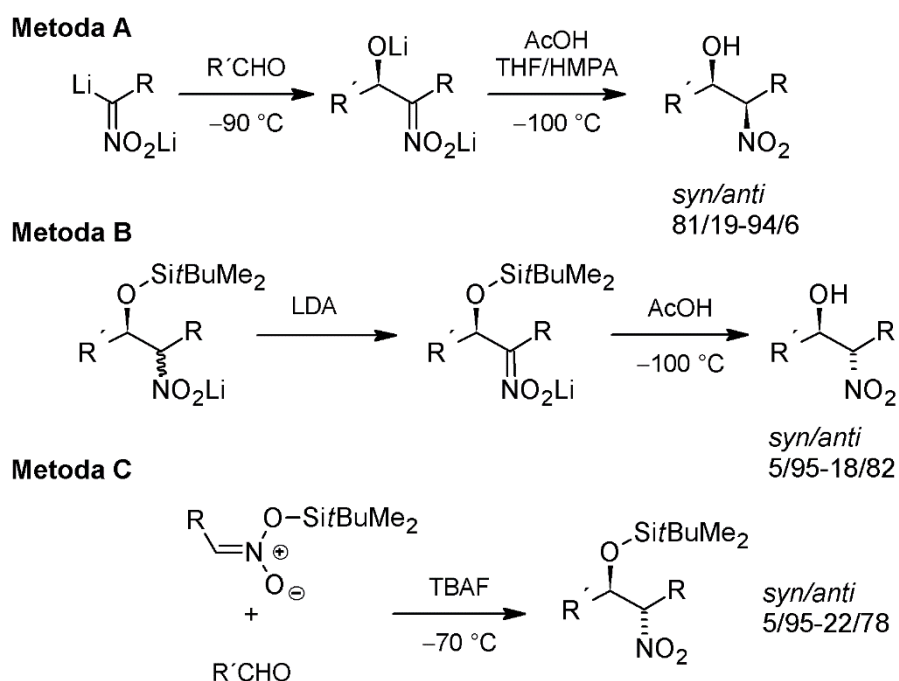
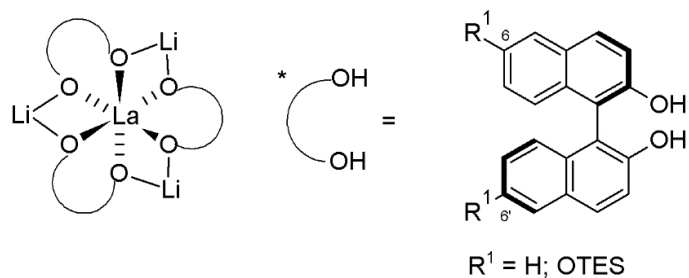


Schéma 4 Stereoselektivní Henryho reakce

Nicméně, první verzi asymetrické Henryho reakce katalyzované enantioselektivním katalyzátorem popsali Shibasaki a kol. až v roce 1992.^[93] Autoři zjistili, že opticky aktivní alkokidy vzácných zemin jako např. $\text{La}_3(\text{O}-t\text{-Bu})_9$ koordinované na (*S*)- nebo (*R*)-BINOL, díky bazickému charakteru katalyzovaly Henryho reakci s enantioselektivním přebytkem (*ee*) vyšším než 90 % pro *R*-izomer.^[45] Modifikací ligandu v pozicích 6- a 6'- (**Obr. 3**) došlo ke zvýšení enantioselektivity (72–97 % *ee*).^[93–97]

Obr. 3 Shibasakiho katalyzátory^[44]

Navržený mechanismus katalýzy vychází z předpokladu, že kov se v komplexu La-Li-(*R*)-BINOL chová jako Lewisova kyselina aktivující aldehyd a BINOLový ligand, jako Brønstedova báze, deprotonuje nitroalkan. Takto vzniklý komplex aktivuje karbonylovou skupinu pro následnou nukleofilní adici. Po uvolnění produktu dochází k regeneraci katalyzátoru (Schéma 5).^[98]

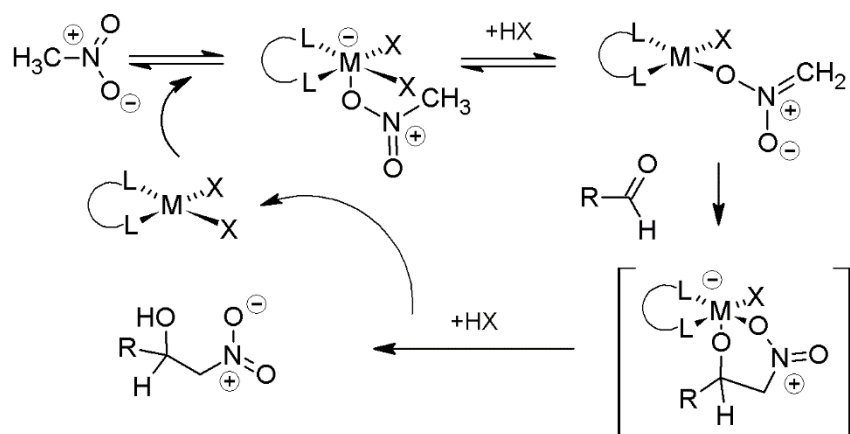
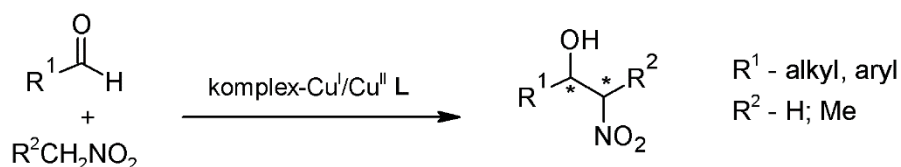
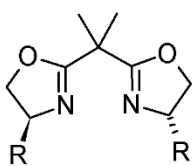


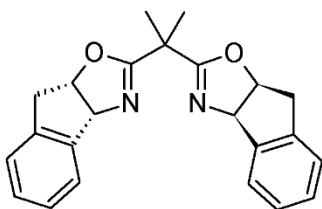
Schéma 5 Mechanismus enantioselektivní Henryho reakce katalyzované kovem

Enantioselektivní katalyzátory vhodné pro asymetrickou Henryho reakci můžeme rozdělit podle typu užitého katalyzátoru na biokatalýzu,^[47,99] organokatalýzu^[5,33,100–107] a katalýzu komplexů kovů s chirálními ligandy, která patří k nejpracovanějším. Nejčastěji používanými kovy jsou lanthanoidy,^[93,95,108,109] Zn,^[28,110,111] Co,^[12,112–114] Cr,^[9,115,116] Ni^[117–119] a Cu. Měď je relativně levný, netoxický kov s dobrými chelatačními vlastnostmi vůči bi- a polydentátním dusíkatým ligandům.^[120,121] Nejčastěji se vyskytuje v oxidačních stavech I a II vzácně pak 0 a III. Měďné ionty Cu(I) tvoří komplexní částice s koordinačními čísly 2, 3 a 4, jedná se tedy o lineární, trigonální, tetraedrické a čtvercově-planární koordinace. Měďnaté ionty Cu(II) tvoří komplexy s koordinačními čísly 4, 5 a 6, středový atom je koordinován v tetraedrickém, tetragonálním, tetragonálně pyramidálním, trigonálně bipyrimidálním, oktaedrickém a tetragonálně bipyramidálním uspořádání. Tyto

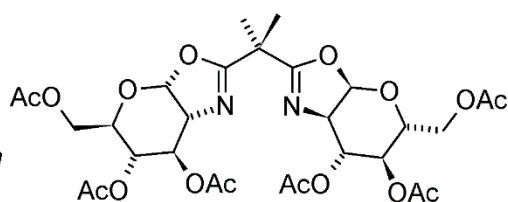
unikátní vlastnosti vedou k tomu, že se měď může koordinovat k velkému množství ligandů jako jsou například oxazoliny,^[24,122] oxazolidiny,^[123–126] deriváty imidazolu,^[127,128] chirální diaminy,^[129–131] aminoalkoholy,^[132] Schiffovy báze,^[133,134] deriváty pyridinu,^[135,136] aj.^[137–139] Vzhledem k dobrým výtěžkům a vysoké enantioselektivitě patří právě chirální komplexy mědi k nejvýznamnějším a nejvyužívanějším katalyzátorům asymetrické Henryho reakce (**Schéma 6**).^[48]

komplex-Cu/Cu^{II}: LR: Ph; *i*Pr; Bn; *t*Bu

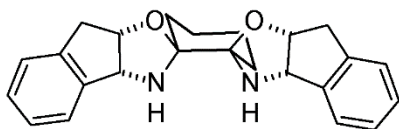
L-Cu(OAc)₂·H₂O
37–67 % ee (S)
Evans a kol.¹²²



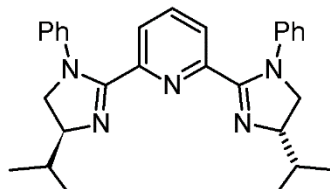
L-Cu(OAc)₂·H₂O
87–94 % ee (R)
Evans a kol.¹²²



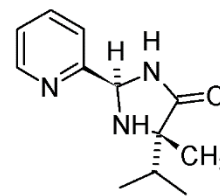
L-Cu(OAc)₂·H₂O
77–94 % ee (R)
Reddy a kol.²⁴

Oxazolinové deriváty

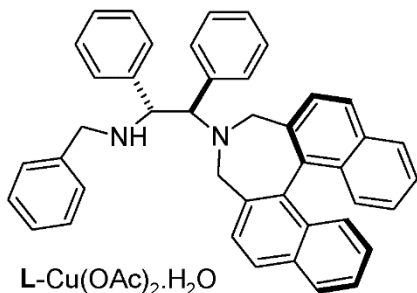
L-Cu(OAc)₂
74–97 % ee (S)
Wolf a kol.^{123–126}



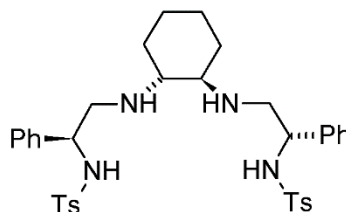
L-Cu(OTf)₂, TEA
93–98 % ee (R)
Ma a kol.¹²⁷



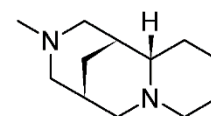
L-Cu(OAc)₂
87–96 % ee (R)
Sedlák a kol.¹²⁸

Oxazolidinový derivát

L-Cu(OAc)₂·H₂O
83–97 % ee (S)
R²: CH₃ 43/57–15/85 *syn/anti*
13–96 % ee (*syn*)
48–96 % ee (*anti*)
Arai a kol.¹²⁹

Deriváty imidazolu

L-CuBr; Py
92–99 % ee (R)
Jin a kol.¹³⁰



L-CuCl₂, TEA
90–98 % ee (S)
Canipa a kol.¹³¹

Diaminové deriváty

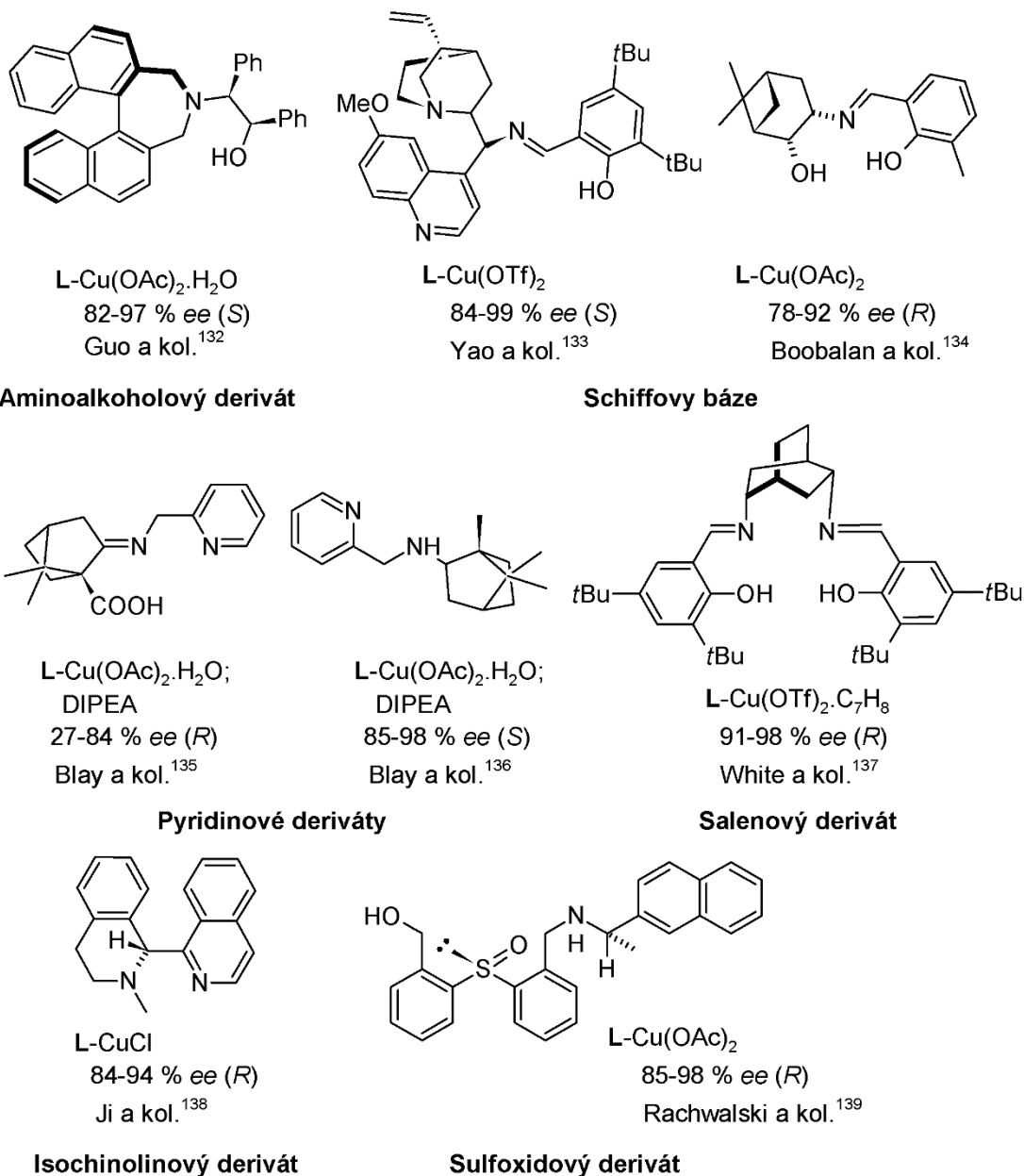


Schéma 6 Přehled chirálních ligandů používaných pro asymetrickou Henryho reakci

2.2 Stereoselektivní intramolekulární Henryho reakce

Intramolekulární variantu Henryho reakce (Schéma 7) lze využít pro přípravu cyklických, nejčastěji pěti- a šesti-členných, β -nitroalkoholů nebo nitroolefinů. Tyto sloučeniny jsou připravovány z karbonylových derivátů s vhodně umístěnou nitroskupinou. Ovšem příprava takto substituovaných prekurzorů s aktivovaným nukleofilním a elektrofilním „koncem“ je v mnoha případech obtížná.^[3]

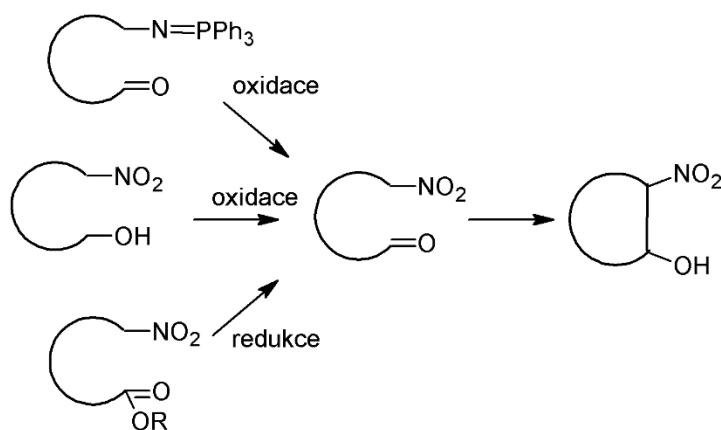
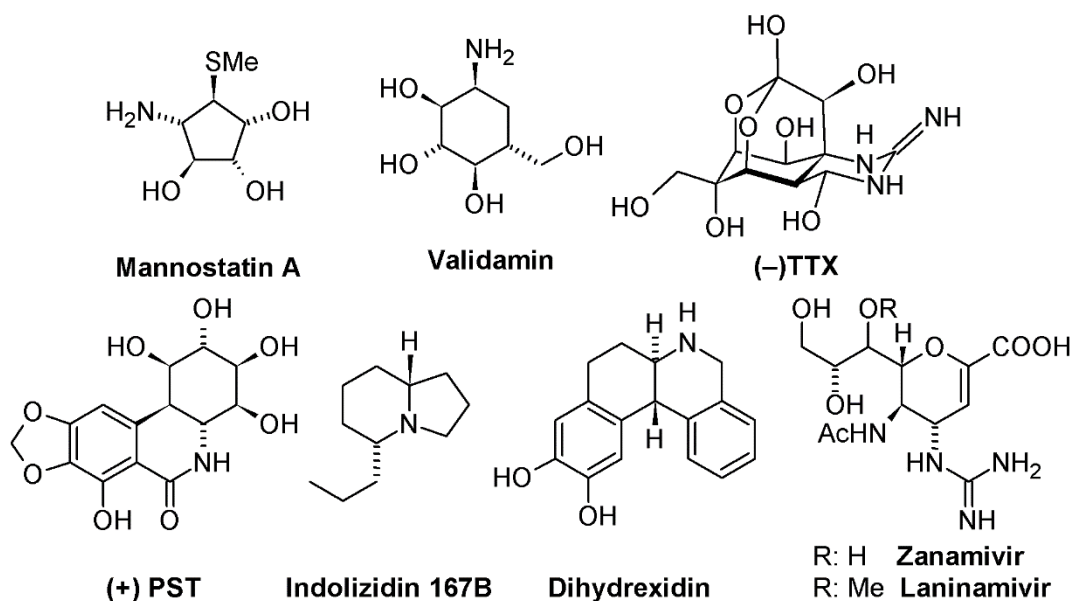


Schéma 7 Intramolekulární Henryho reakce

Intra- i intermolekulární Henryho reakce probíhající za mírných reakčních podmínek, spolu s použitím chirálních katalyzátorů nebo chirálních substrátů, představuje univerzální nástroj pro přípravu mnoha biologicky aktivních nebo přírodních látek.^[27,140,141] Mezi nejvýznamnější produkty intramolekulární Henryho reakce patří nitrocyklitoly, které jsou klíčovými intermediáty zejména pro přípravu pěti- a šestičlenných aminocyklitolů.^[142–146] Tento skelet lze najít např. v inhibitech glukosidáz Mannostatinu A^[147] a Validaminu^[148] nebo v přírodních látkách jako je (-)-Tetrodotoxin (TTX)^[140] a (+)-Pankratistatin (PST).^[149] Intramolekulární Henryho reakce se uplatňuje i v totální syntéze dalších látek jako např. Indolizidin 167B,^[150] Dihyrexidin,^[151] Zanamivir,^[152] Laninamivir^[152] (Obr. 4) a další.^[153]

Obr. 4 Biologicky aktivní deriváty cyklických β -aminoalkoholů

První práce zabývající se intramolekulární Henryho reakcí, resp. dvojnásobnou inter/intra Henryho reakcí, pocházejí z 60. let 20. století. Byla studována reakce nitromethanu s ftaldialdehydem^[154] katalyzovaná alkalickým hydroxidem a reakce nitromethanu s 2-benzoylbenzaldehydem^[155] v prostředí methanolátu sodného za vzniku příslušných 2-nitroindan-1,3-diolů ve formě dvou diastereoizomerů, které nebylo možné separovat. Reakci nitromethanu s různými dialdehydy zpracoval v přehledném článku již v roce 1964 Lichtenthaler.^[156] Na tyto práce navázal v roce 2009 Ruano a kol., kdy dosáhl při reakci ftaldialdehydu s nitroalkany vysoké diastereoselektivity (**Schéma 8**).^[157]

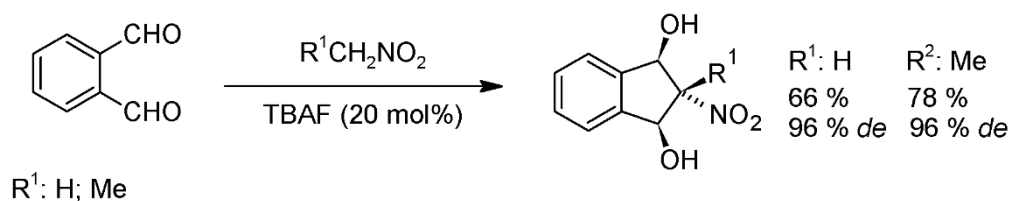


Schéma 8 Diastereoselektivní reakce ftaldialdehydu s nitroalkany

Aromatické 1,2-dialdehydy^[158] mohou reagovat také s cyklickými α -nitroketony za přítomnosti DBU v THF obsahujícím malé množství vody. Tato „*one pot*“ reakce poskytuje různé produkty v závislosti na velikosti kruhu použitého α -nitroketonu. Při použití α -nitrocycloheptanonu resp. α -nitrocyclooktanonu dochází nejprve k intermolekulární Henryho reakci, poté retro-Dieckmannově reakci za otevření kruhu a následně dochází k intramolekulární Henryho reakci za vzniku substituovaných 2-nitroindan-1,3-diolů (**Schéma 8**). Tato reakce poskytuje relativně vysoké výtěžky 66–99 % a diastereoizomerní přebytek v rozmezí 60–99 *de*. Stejně reakční podmínky byly použity také pro α -nitrocyclohexanon. Při této reakci ovšem nedošlo k otevření kruhu a následovala aldolizace za vzniku α' -arylmethylenového derivátu (**Schéma 9**).

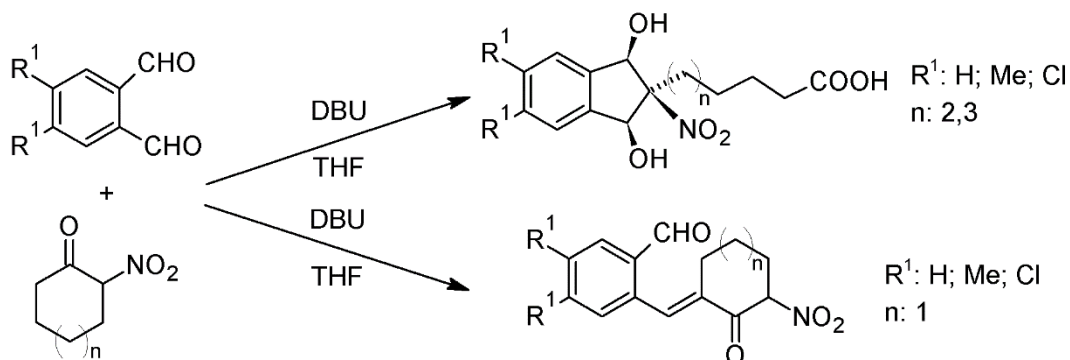


Schéma 9 Reakce aromatických 1,2-dialdehydů s cyklickými α -nitroketony

Diastereoselektivní syntézu pankratistatinových a lykoridinových derivátů s využitím intramolekulární Henryho reakce popsal v roce 1998 McNulty^[159] (**Schéma 10**). Výchozí nitroaldehyd byl připraven Michaelovou adicí 4-brombutyrátu na arylnitroolefin a následnou selektivní redukcí esterové skupiny na aldehyd. Použitím tandemové reakce Michaelovy adice na nitroolefiny, následované intramolekulární nitroaldolovou kondenzací, pro přípravu cyklických alkaloidů se již dříve zabýval Seebach a Weller.^[160]

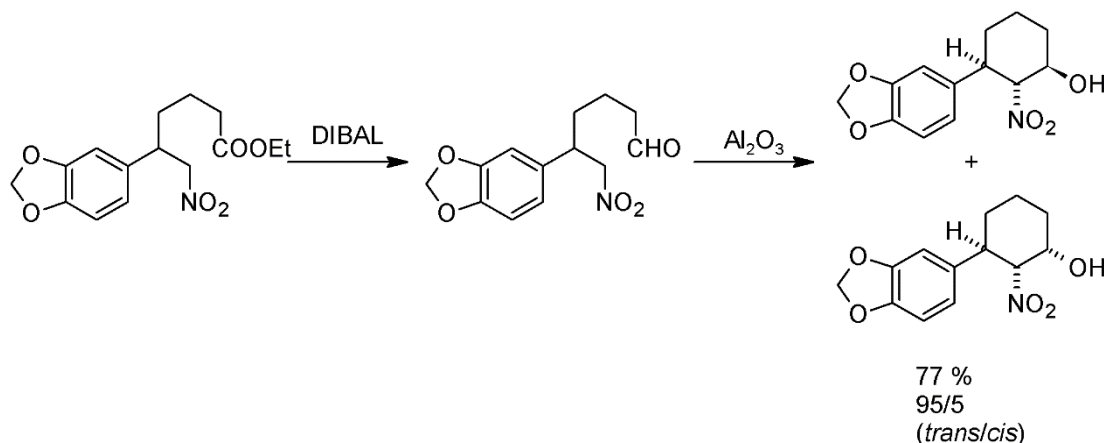


Schéma 10 Diastereoselektivní syntéza pankratistatinových a lykoridinových derivátů

Intramolekulární Henryho reakce je rovněž vhodným nástrojem pro přípravu nitroderivátů odvozených od sacharidů, které se využívají k syntéze inositolů. Jedním z prvních, kdo se zabýval touto problematikou, byl Soengas a kol.^[161] Autoři připravili 3-desoxy-3-hydroxymethyl-*myo*-inositol z D-glukosy. Reakční sekvence zahrnovala dvě nitroaldolové kondenzace. Tou první byla intermolekulární reakce nitroethanolu s derivátem D-glukofuranosy, která poskytovala směs dvou epimerů v poměru 3:2 v 75% výtěžku. Následná intramolekulární cyklizace nitroalkanu, odvozeného od D-glukofuranosy, na cyklohexanový kruh poskytovala pouze jediný enantiomerně čistý derivát ve výtěžku 53 % (**Schéma 11**).

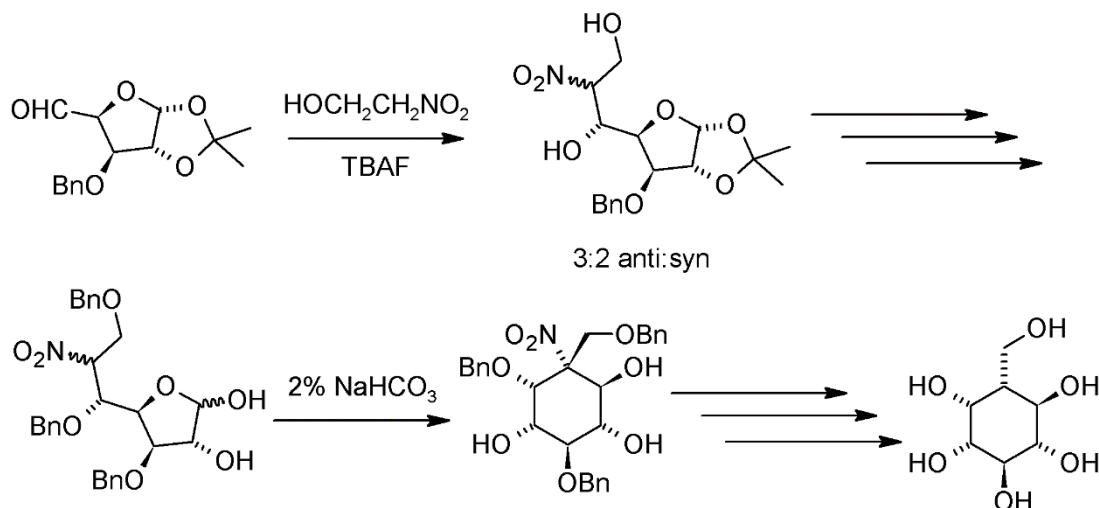


Schéma 11 Syntéza inositolů s využitím intramolekulární Henryho reakce

D-Glukosa byla použita také pro přípravu derivátu nitro-*muco*-inositolu^[141] (**Schéma 12**). Intermolekulární Michaelovou adicí nitromethanu na α,β -nenasycený ester odvozený od D-glukosy vznikl stereoselektivně pouze jeden izomer nitroesteru v 87% výtěžku. Derivát nitro-*muco*-inositolu vznikl intramolekulární Henryho reakcí z tohoto nitroesteru, působením organokatalyzátoru DABCO v benzenu ve výtěžku 80 %.

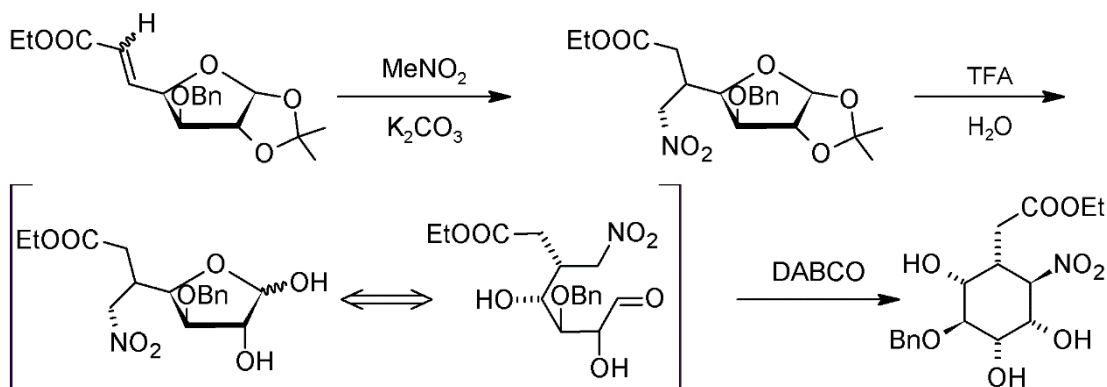


Schéma 12 Příprava derivátu *muco*-nitroinositolu intramolekulární Henryho reakcí

2.2.1. Asymetrická intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná komplexy kovů

Použití asymetrické intramolekulární Henryho reakce katalyzované komplexy kovů pro syntézu cyklických β -nitroalkoholů není příliš časté. První asymetrickou tandemovou inter/intramolekulární Henryho reakci katalyzovanou komplexem kovu provedli Shibasaki a kol.^[162,163] (**Schéma 13**). Jednalo se o „one pot“ reakci aldehydu s nitromethanem katalyzovanou lanthanoidovými komplexy, tzv. Shibasakiho katalyzátory. Enantiomerní přebytky vzniklého cyklického produktu se zvýšily

následnou krystalizací z CH_2Cl_2 . Nejlepšího výsledku bylo dosaženo s použitím lanthanoidu praseodymu, kdy cyklický produkt byl získán v 65% *ee*, první krystalizací došlo ke zvýšení enantiomerního přebytku až na 79% *ee* a další krystalizací dokonce až na 96% *ee*.

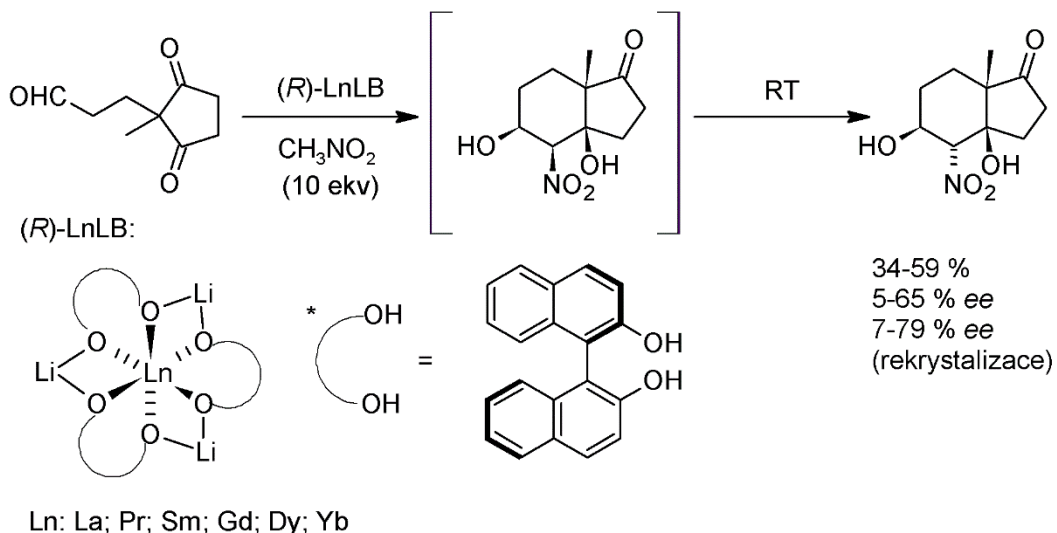


Schéma 13 Intramolekulární Henryho reakce katalyzována tzv. Shibasakiho katalyzátory

Nejčastěji se intramolekulární Henryho reakce uplatňuje v tandemu s Michaelovou adicí.^[5,44] Přehled vybraných reakcí, katalyzovaných chirálními komplexy kovů, je popsán v přehledném článku z roku 2016.^[164] Pro tandemovou Michael/Henryho reakci se jedná zejména o katalýzu nikelnatými^[118,165,166] a měďnatými^[167] komplexy. Vybrané reakce jsou uvedeny v následujících schématech (**Schéma 14–16**).

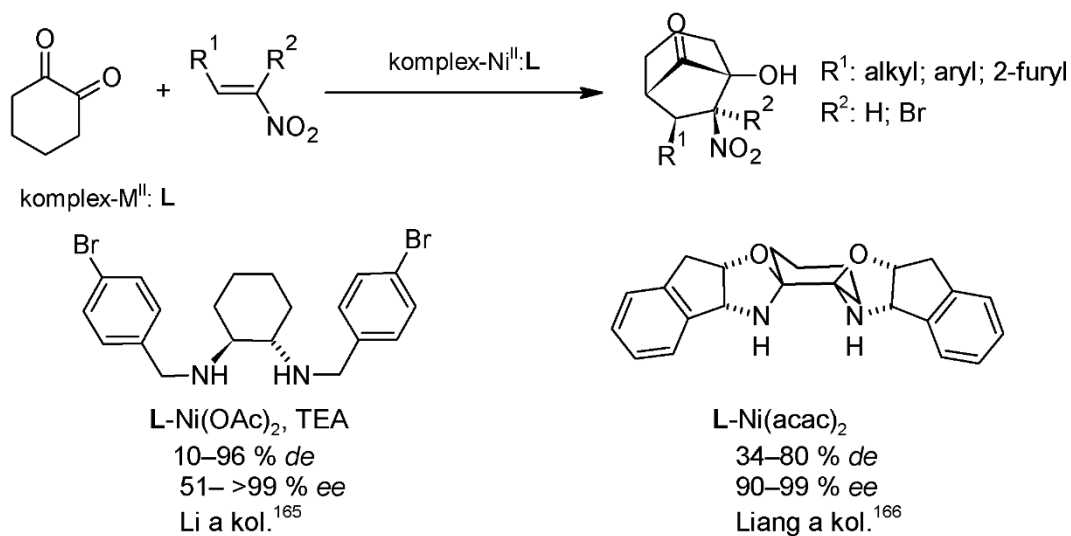


Schéma 14 Intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná nikelnatými komplexy

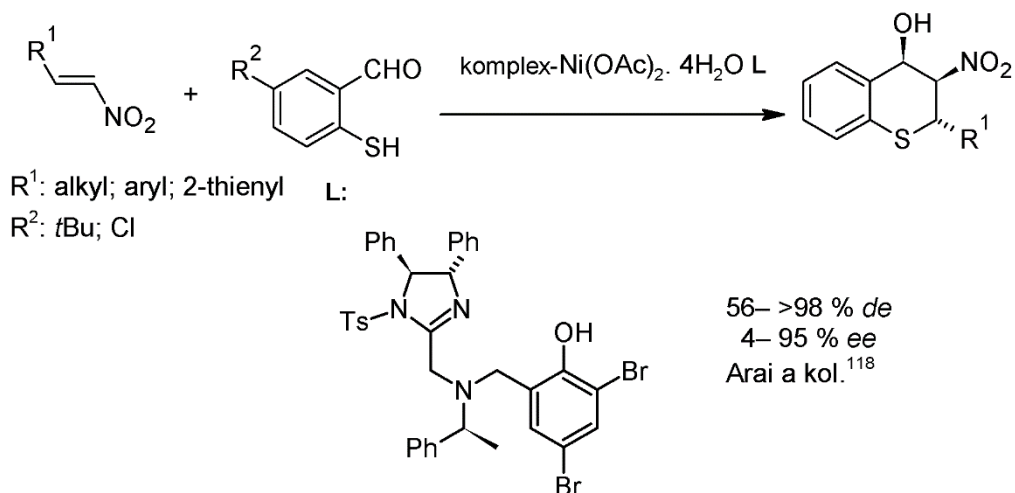


Schéma 15 Intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná nikelnatým komplexem

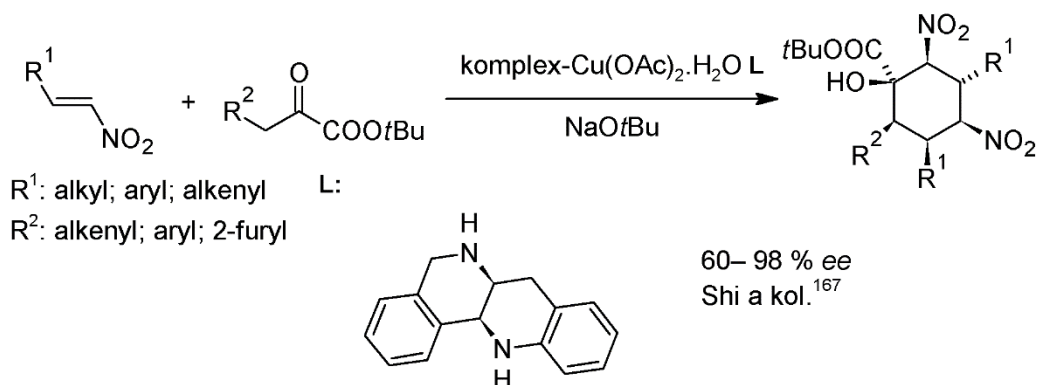


Schéma 16 Intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná měďnatým komplexem

2.2.2. Asymetrická intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná organokatalyzátory

Organokatalýza hraje významnou roli v tandemových reakcích, které se využívají pro přípravu cyklických sloučenin s větším množstvím stereogenních center.^[168,169] Organokatalytická enantioselektivní domino Michael/Henryho reakce patří v posledních letech k těm nejvýznamnějším, což dokládá množství publikací a přehledných článků.^[169–177] Velmi podrobně se touto problematikou zabývají přehledné články z roku 2011^[5] a 2018.^[178]

Nejčastěji používanými chirálními organokatalyzátory pro enantioselektivní tandemovou Michael/Henryho reakci jsou deriváty prolinu (Schéma 17),^[179] deriváty chinolinových alkaloidů (Schéma 18),^[180] deriváty kyseliny čtvercové (Schéma 19–20),^[181–185] deriváty thiomocoviny (Schéma 21)^[186] a např. guanidinu (Schéma 22).^[187]

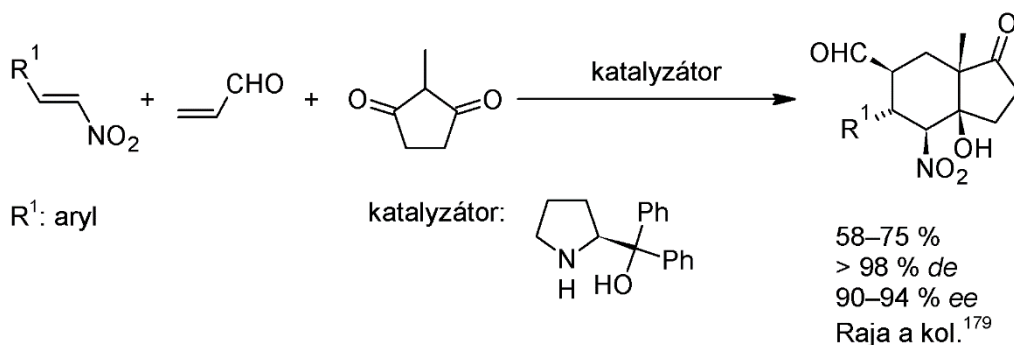


Schéma 17 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná derivátem prolinu

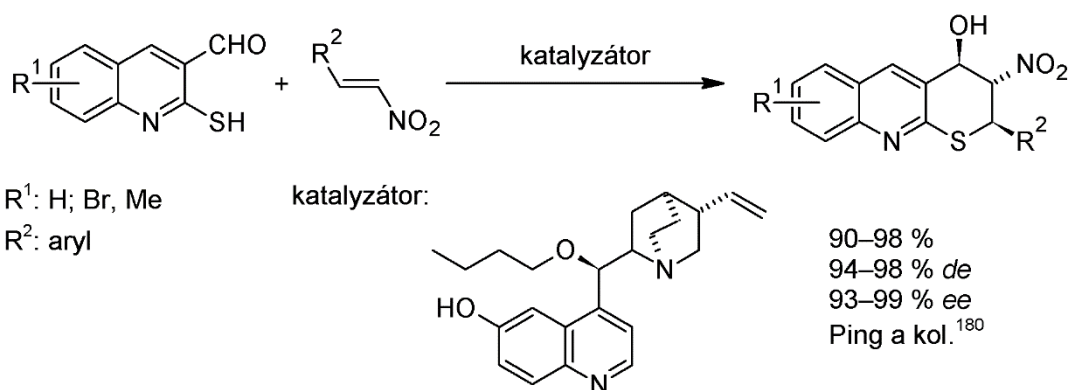


Schéma 18 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná derivátem chinolinového alkaloidu

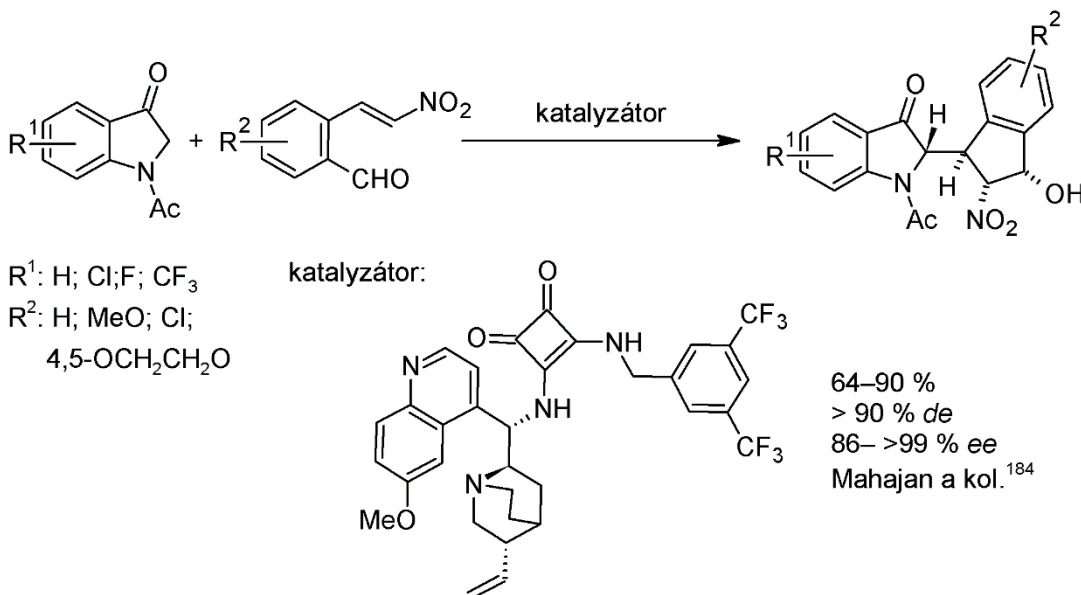


Schéma 19 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná chirálním derivátem kyseliny čtvercové

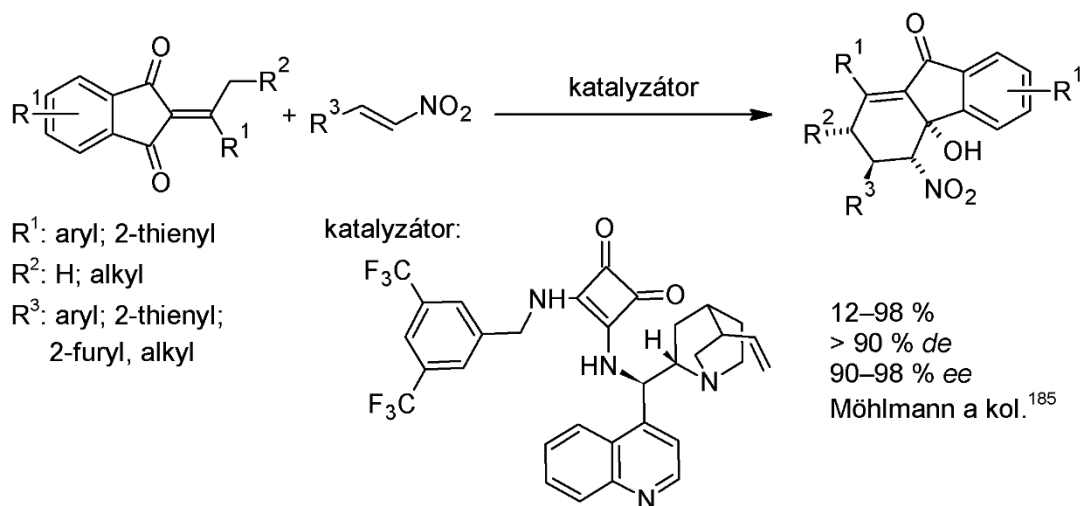


Schéma 20 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná derivátem kyseliny
čtvercové

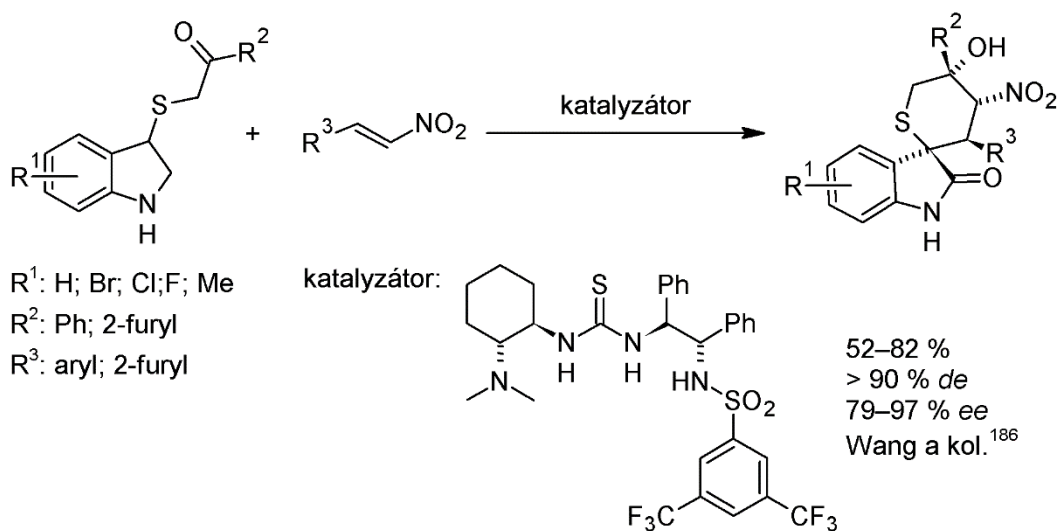


Schéma 21 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná derivátem
thiomočoviny

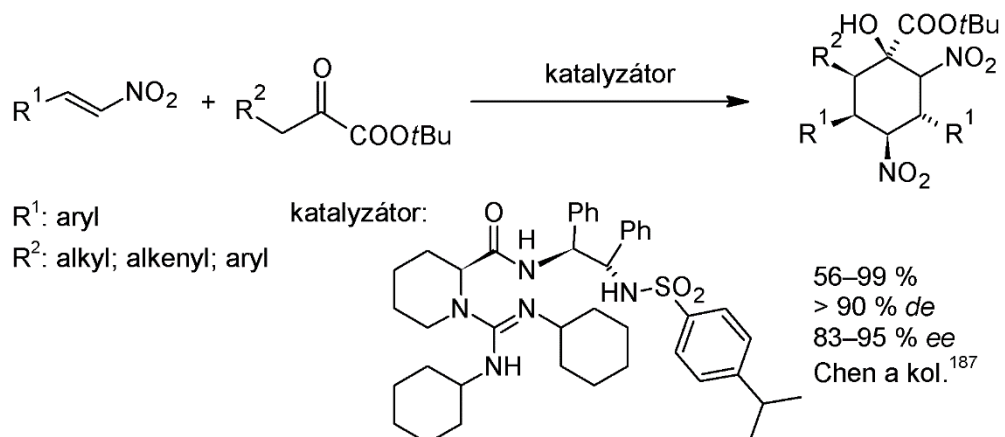


Schéma 22 Tandemová Michael/Henryho reakce katalyzovaná derivátem guanidinu

2.3 Asymetrická cyklopropanační reakce katalyzovaná chirálními komplexy mědi v homogenním prostředí

Syntéza cyklopropanového kruhu z alkenů a diazoalkanů, katalyzovaná komplexy mědi, je známá již více než 50 let. První práci, zabývající se asymetrickou cyklopropanační reakcí zahrnující rozklad diazoalkanů v přítomnosti alkenů, publikovali Nozaki a Noyori v roce 1966.^[188] Ačkoli použití měďnatého komplexu chirálního salicyliminu (**Schéma 23**) vedlo k získání produktů pouze v nízkém enantiomerním přebytku 6 % *ee*, měla tato práce zásadní vliv na vývoj jednoho z nejrozšířenějších a nejefektivnějších způsobů přípravy chirálních cyklopropanových derivátů v neracemické formě.^[77,90]

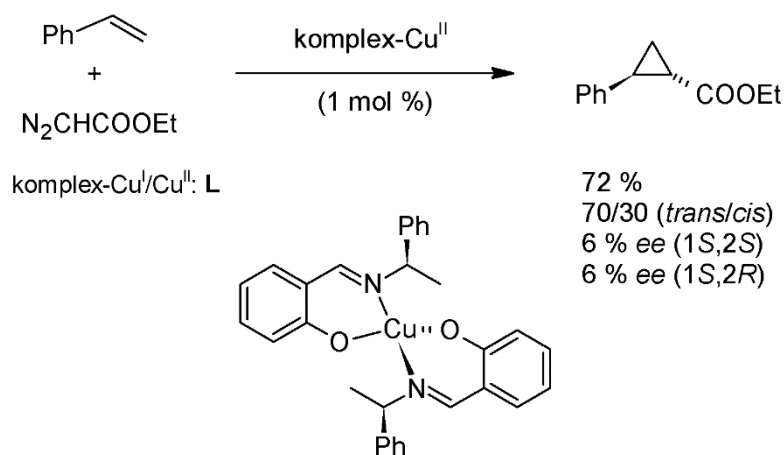


Schéma 23 První asymetrická cyklopropanační reakce katalyzovaná chirálním měďnatým komplexem

Tento ligand byl následně modifikován, což vedlo k úspěšné asymetrické syntéze esterů kyseliny chryzantémové a sloučeniny Cilastatinu, který inhibuje enzym dehydropeptidázu.^[189,190] Na tyto práce v nedávné minulosti navázali Itagaki a kol.,^[191–193] kteří kombinací měďnatého chirálního komplexu Schiffovy báze a Lewisovy kyseliny zvýšili katalytickou účinnost původního katalyzátoru (**Schéma 24**).

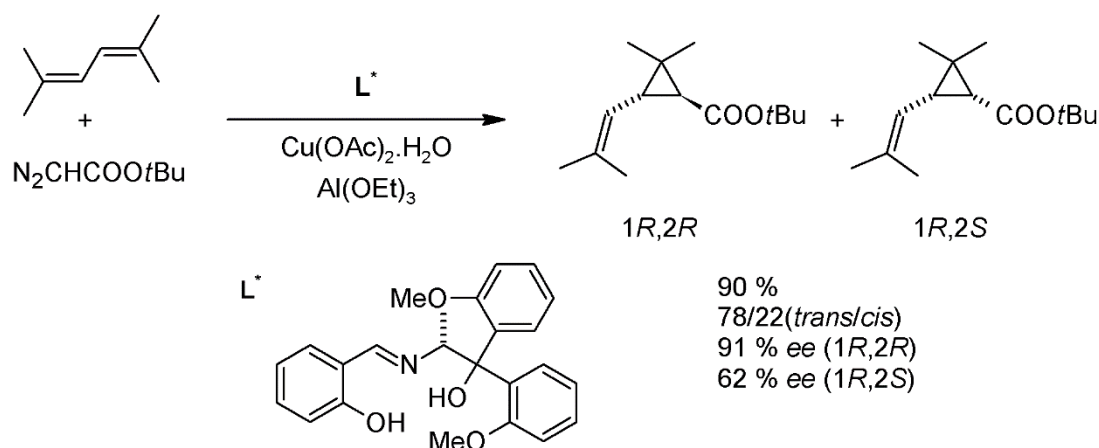


Schéma 24 Chirální komplex Schiffovy báze a Lewisovy kyseliny

Vysoce efektivní a stereokontrolovaná syntéza funkcionalizovaných cyklopropanů byla vyvinuta v 90. letech 20. století. Bylo připraveno velké množství rozličných chirálních ligandů, jejichž měďné a měďnaté komplexy byly testovány jako potenciální katalyzátory asymetrické cyklopropanace. Míra diastereoselektivity v cyklopropanační reakci velmi často závisí na konkrétních substituentech, a to jak na alkenu, tak i na použitém diazoalkanu. Mnohé katalyzátory byly navrhovány tak, aby se zvýšil selektivní vznik produktu s *cis* versus *trans* konfigurací.

Akceptovaný mechanismus, mědi katalyzované cyklopropanační reakce, zahrnuje interakci katalyzátoru s diazoalkanem, což vede ke vzniku reaktivního metalokarbenového komplexu, následovaný přenosem elektrofilního karbenu na elektronově bohatý alken ve smyslu [2+1] cykloadice (**Schéma 25**). Tento mechanismus je podpořen DFT výpočty,^[194,195] měřeními isotopových efektů a studiemi podle Hammetta.^[196]

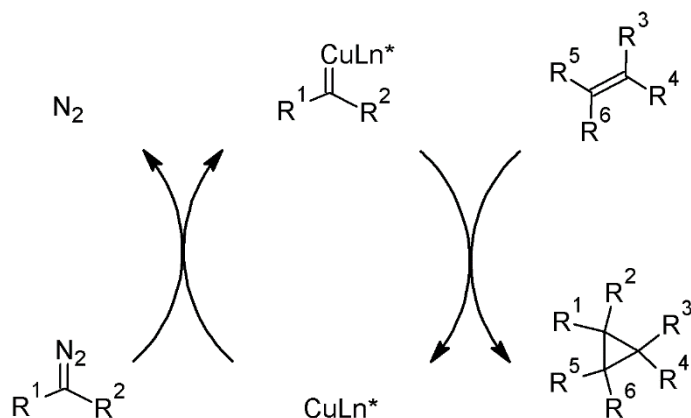
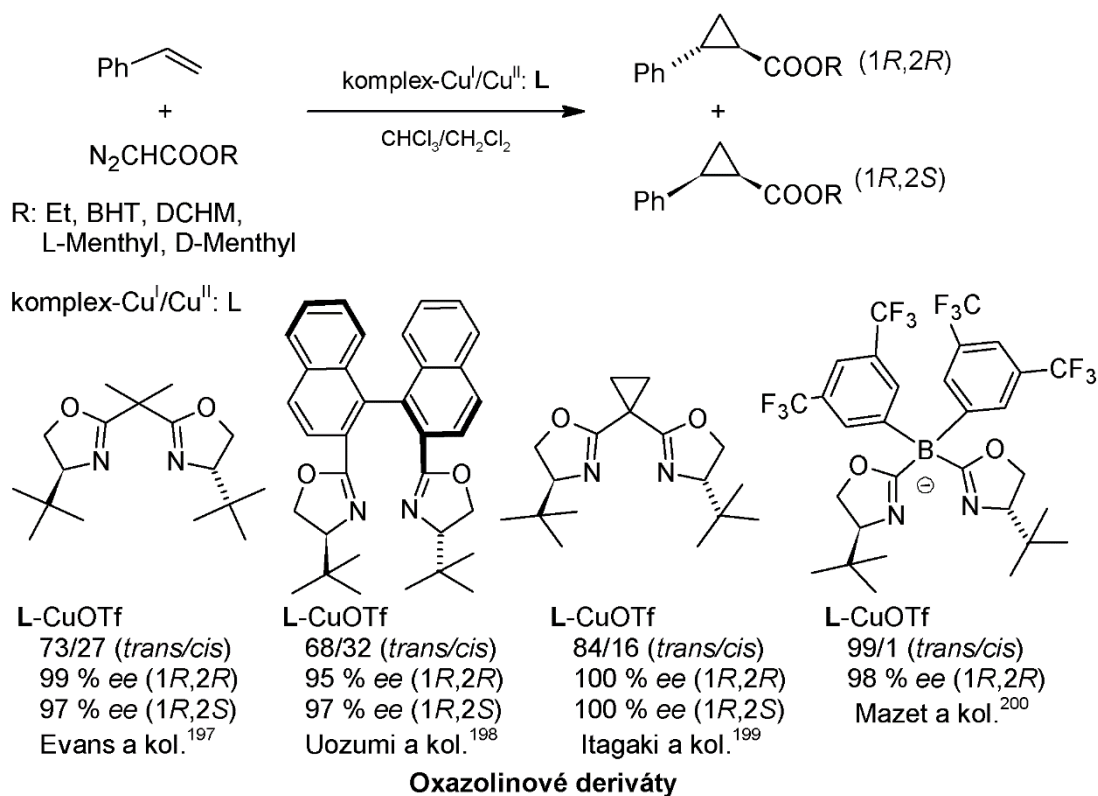


Schéma 25 Mechanismus mědi katalyzované cyklopropanační reakce

Oxidační stav atomu mědi je pro reakci velmi důležitý. Katalyticky aktivní formou je komplex s měďným iontem, přesto se používají rovněž měďnaté komplexy,

a to v kombinaci s redukčními činidly (např. diisobutylaluminium hydrid (DIBAL), fenyldiazin, aj.). Obecně platí, že lepších výsledků je dosaženo, pokud je chirální měďný komplex připraven *in situ*, smícháním CuOTf s chirálním ligandem v reakčním prostředí (CH₂Cl₂; CHCl₃ apod.).^[77] Obvyklou modelovou reakcí pro testování nových ligandů je asymetrická cyklopropanační reakce styrenu s alkyl-diazoacetáty. Ve **Schématu 26** jsou pak uvedeny vybrané chirální ligandy, jejichž měďné komplexy, poskytují dobré až excelentní výsledky s rozličnými alkeny. Nejčastěji používané ligandy (resp. jejich měďné komplexy) pro katalýzu asymetrické cyklopropanace jsou odvozeny od derivátů oxazolinu,^[197–200] bipyridinu,^[201,202] diaminu,^[203,204] semikorrinu,^[205–207] Schiffových bází^[208–211] a dalších^[212–215] (**Schéma 26**).



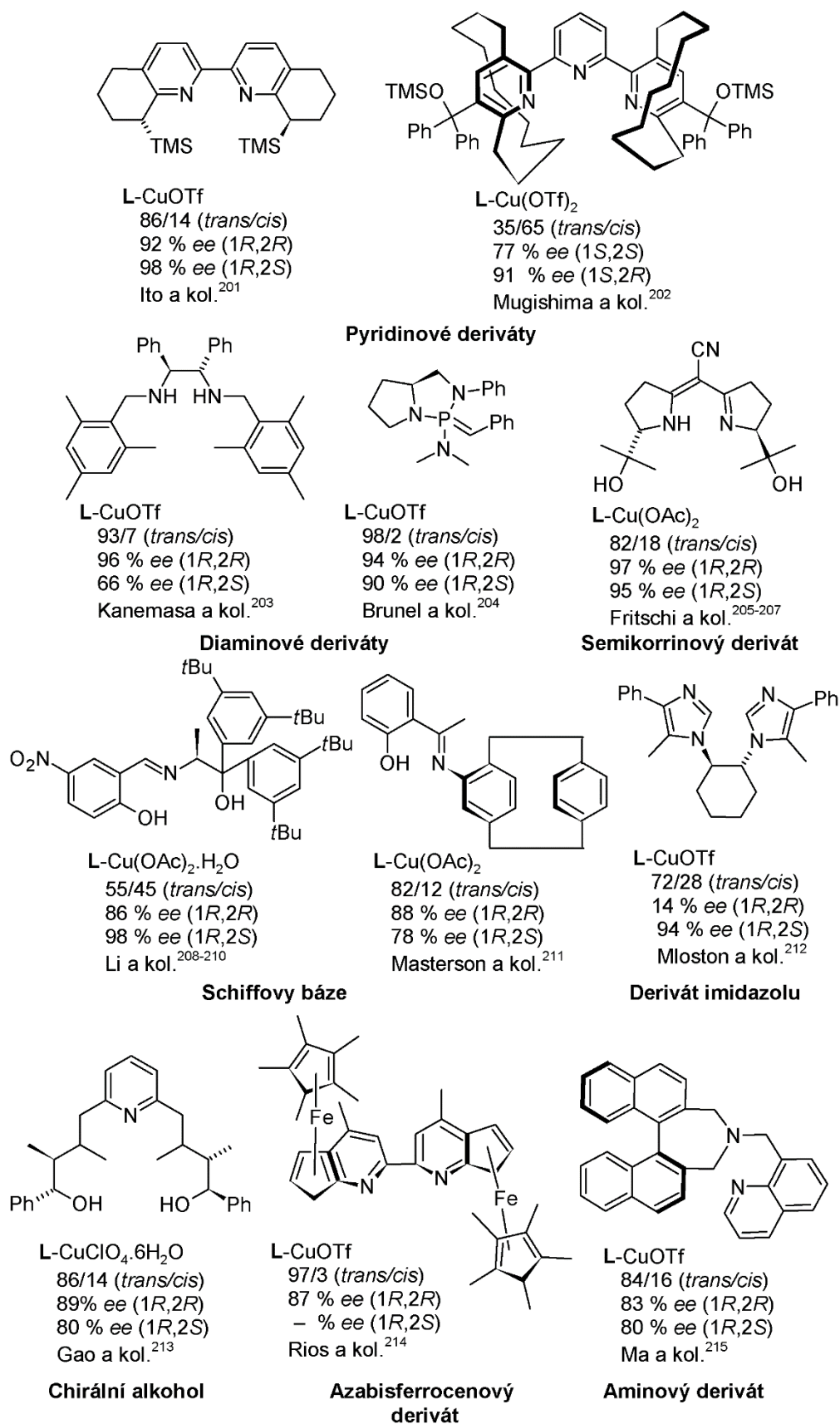


Schéma 26 Přehled chirálních ligandů používaných pro asymetrickou cyklopropanační reakci

Vzhledem k tomu, že diazosloučeniny jsou považovány za toxické, karcinogenní a potenciálně výbušné, další oblast výzkumu v asymetrické cyklopropanaci, katalyzované měďnými komplexy chirálních bisoxazolinů, se zabývá také alternativními zdroji reaktivního karbenu. Příkladem může být použití bezpečnějších α -diazomethanfosfonátů pro přípravu cyklopropanfosfonátů s využitím komplexu CuOTf a Evansova bisoxazolinového ligandu (**Schéma 27**)^[216] nebo fenyliodonium-ylidů, které mohou potenciálně nahradit diazosloučeniny. Tyto sloučeniny jsou ovšem velmi nestálé, proto je jejich využití výhodné pouze pro „one pot“ reakce, kdy je fenyliodonium-ylid generován *in situ* (**Schéma 28**).^[217–220]

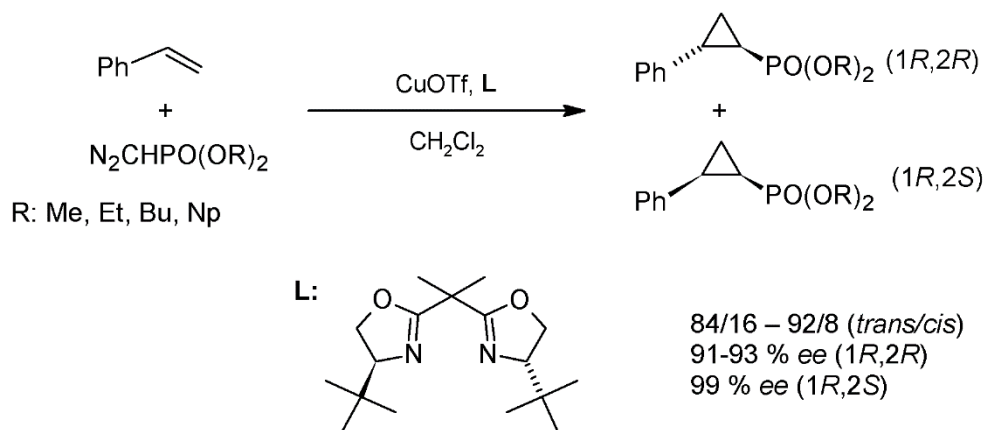
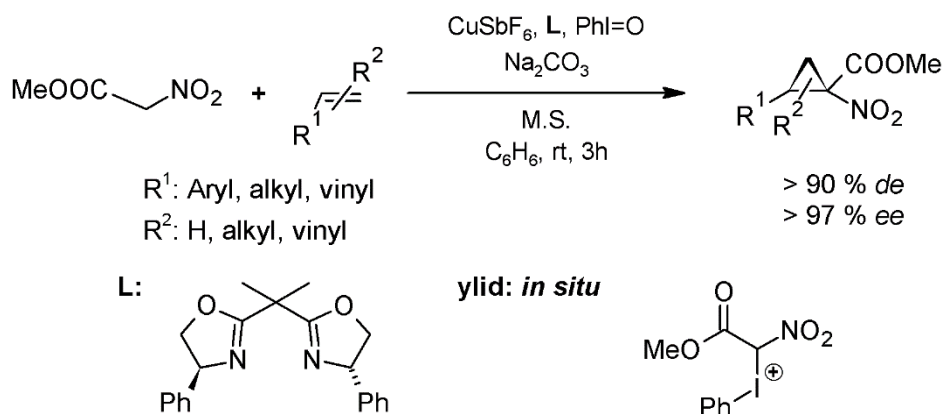


Schéma 27 Příprava cyklopropanfosfonátů

Schéma 28 Použití fenyliodonium-ylidu generovaného *in situ* v cyklopropanaci^[218]

2.4 Inhibice cholinesteráz

2.4.1 Acetylcholin a jeho funkce v cholinergním systému

Cholinergní systém obratlovců je založen na jednom z nejvýznamnějších neurotransmiterů – acetylcholinu (ACh), který byl, jako první neurotransmitter vůbec, popsán na počátku 20. století.^[221,222] Tento synaptický mediátor nervových vzruchů je široce zastoupen jak v centrální (CNS), tak periferní nervové soustavě (PNS).^[223,224] Syntéza ACh probíhá v pre-synaptických neuronech z cholinu (Ch) a acetyl-CoA působením enzymu acetylcholintransferázy. Vzniklý ACh je uvolňován do synaptické štěrbině a váže se na acetylcholinový receptor (AChR), čímž dochází k přenosu vzruchu v CNS. V nervovém systému jsou dva základní acetylcholinové receptory: receptory muskarinového typu (mAChR) a nikotinového typu (nAChR). Acetylcholinové receptory se objevují také v mnoha dalších buňkách, včetně endoteliálních a buněk imunitního systému.^[225] Nenavázaný ACh je ihned hydrolyzován cholinesterázou (ChE) na cholin, který se vrací do presynaptické štěrbině, a kyselinu octovou (**Schéma 29**).^[226] Narušení této enzymatické hydrolyzy je spojeno s mnoha chorobami včetně Alzheimerovy choroby (AD).^[227,228] Toto onemocnění souvisí s nízkou hladinou ACh v cholinergních synapsích, což je způsobeno zvýšenou aktivitou cholinesteráz, a proto je léčba spojena s inhibicí těchto enzymů.^[229]

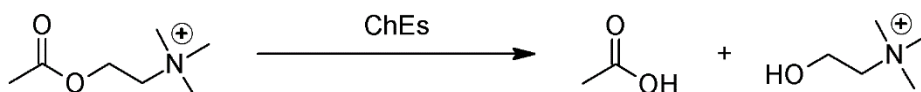


Schéma 29 Hydrolyza acetylcholinu

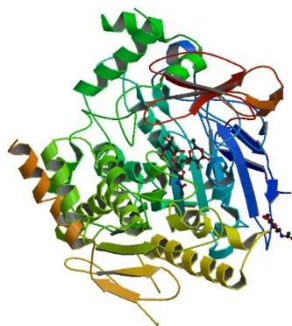
2.4.2 Cholinesterázy

Esterázy jsou obecně definovány jako enzymy, které jsou v přítomnosti vody schopny hydrolyzovat estery, resp. thioestery za vzniku kyseliny a alkoholu. ChEs jsou významné sekreční enzymy, které lze zařadit do několika skupin: esterázy, serinové hydrolázy,^[229] α/β hydrolázy.^[230] ChEs hrají klíčovou úlohu v mnoha oblastech jako je např. neurobiologie, farmakologie a toxikologie.^[231] Katalyzují hydrolyzu esterů cholinu (substrát) mnohem rychleji než jiných esterů, z čehož plyne také jejich název. Pokud katalyzují přeměnu většího počtu substrátů, je jejich název odvozen od toho, jehož hydrolyza probíhá nejrychleji.^[232]

Obratlovci mají dva geny, které jsou zodpovědné za produkci ChEs. Jedná se o gen lokalizovaný na lidském chromozomu 7 (7q22), kódující enzym acetylcholinesterázu (AChE, EC 3.1.1.7), a gen lokalizovaný na lidském chromozomu 3 (3q26.1–q26.2), který kóduje enzym butyrylcholinesterázu (BChE, EC 3.1.1.8).^[233] Struktura obou enzymů je dobře známá. Aktivní místo AChE i BChE se nachází v hydrofóbním centru molekuly a obsahuje katalytické a cholinové vazebné místo, kde dochází k hydrolýze ACh. Tato charakteristická prohlubeň je pro oba enzymy strukturně rozdílná a dochází v ní k vazebné interakci se substrátem.^[234] Interakce substrátu s AChE je zprostředkována dvěma molekulami fenylalaninu přítomnými ve struktuře enzymu, jejichž aromatické zbytky směřují do prohlubně.^[235] U BChE jsou fenylalaninové jednotky nahrazeny dvěma menšími aminokyselinami, a to valinem a leucinem.^[236] BChE je vůči ACh méně substrátově specifická, což souvisí právě s touto chemickou a konformační změnou. Menší aminokyseliny zajišťují v prohlubni molekuly enzymu BChE větší prostor a vytváří tak místo pro vazbu s různými substráty nebo případnými inhibitory.^[234,237]

2.4.2.1. Acetylcholinesteráza (EC 3.1.1.7)

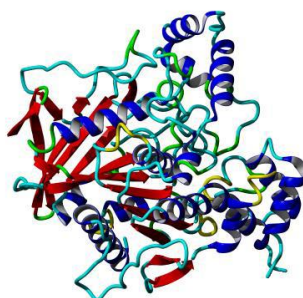
AChE (pravá cholinesteráza) (**Obr. 5**), je vysoce specifickým enzymem a katalyzuje hydrolýzu ACh mnohem rychleji než jiných esterů, čímž hraje klíčovou úlohu při přenosu nervového vzruchu.^[226] Vyskytuje se ve všech typech tkání: nervy, svaly, tkáně CNS a PNS, motorická a senzorická vlákna, cholinergní a necholinergní vlákna.^[238] Můžeme ji najít také v jiných než neuronových buňkách, např. v membránách červených krvinek, ve kterých však její funkce není zcela objasněna.^[226,239]



Obr. 5 Acetylcholinesteráza^[240] (označení v proteinové bance 1B41)

2.4.2.2. Butyrylcholinesteráza (EC 3.1.1.8)

BChE (pseudocholinesteráza) (**Obr. 6**) katalyzuje, kromě hydrolýzy ACh, hydrolýzu mnoha různých substrátů, nejrychleji butyrylcholinu (BCh), který však není fyziologickým substrátem.^[241–243] BChE je syntetizována v játrech a vyskytuje se v krevním séru, střevech, plicích a srdci. Její přítomnost byla prokázána i v CNS, gliových buňkách a u pacientů s AD v neurotických placích.^[241] Hlavní funkce tohoto enzymu není doposud zcela objasněna. Předpokládá se, že se může uplatnit při odbourávání některých toxinů a léčiv v organismu.^[235,244–248]



Obr. 6 Butyrylcholinesteráza^[246] (označení v proteinové bance 1P0I)

2.4.3 Inhibitory cholinesteráz

V biochemii jsou jako inhibitory (negativní efektory) charakterizovány takové látky, které způsobují snížení aktivity enzymu a tím omezují či zamezují správnému průběhu enzymatické reakce. Inhibice může být přirozená – jakožto součást regulace buněčných procesů, nebo nepřirozená – přítomnost inhibitoru je neobvyklá (jedná se o zplodiny metabolismu, léčiva nebo toxiny).^[249,250]

Inhibitory cholinesteráz (ChEI) se mohou reverzibilně nebo irreverzibilně vázat k ChEs, čímž zabraňují hydrolýze ACh a tím zvyšují jeho množství v cholinergních synapsích. Tento proces tak umožňuje jeho správnou distribuci pro nervový a nervosvalový přenos. Inhibitory lze dělit podle typu a doby trvání inhibičního účinku, chemické struktury inhibitoru, mechanismu inhibiční reakce, aj.^[234]

Dělení dle typu a doby trvání inhibičního účinku^[251,252]

- **Reverzibilní inhibitory** slabé nekovalentní vazby, krátká doba účinnosti
- **Pseudo–irreverzibilní inhibitory** kovalentní vazby podléhající postupné hydrolýze, středně dlouhá doba účinnosti

- **Irreverzibilní inhibitory** tzv. enzymové inaktivátory – silná kovalentní vazba, změna konformace enzymu, neschopnost vazby k substrátu

Dělení dle chemické struktury inhibitoru^[234]

- **Piperidinové deriváty** (Donepezil) reverzibilní inhibitory, přednostně inhibující AChE
- **Karbamáty** (Rivastigmin, Fysostigmin, Pyridostigmin) pseudo-irreverzibilní inhibitory, inhibují AChE i BChE
- **Alkaloidy** (Galantamin, Huperzin) reverzibilní inhibitory AChE a zároveň ovlivňují pre- i postsynaptické nikotinové receptory
- **Akridinové deriváty** (Takrin) reverzibilní inhibitory, přednostně inhibují AChE
- **Organofosfáty** (Metrifonát) patří mezi irreverzibilní inhibitory, přednostně inhibují AChE

Dělení dle mechanismu inhibičního účinku^[234]

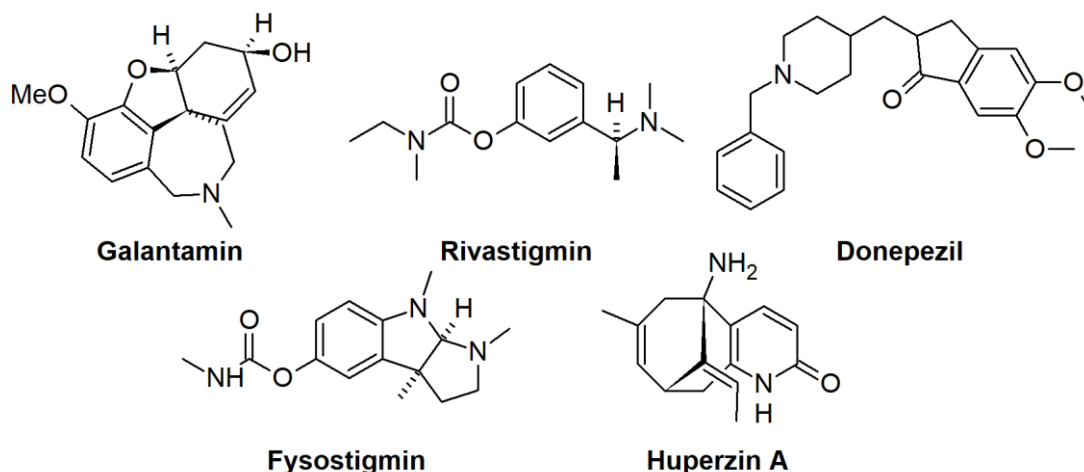
- **Kompetitivní inhibice** (konkurenční) inhibitor se váže na místo, kde se váže substrát
- **Nekompetitivní inhibice** (nekonkurenční) inhibitor se váže na jiné místo než substrát
- **Akompetitivní inhibice** inhibitor se není schopný vázat na volný enzym, ale váže se na komplex enzym – substrát
- **Smíšená inhibice** tento typ inhibice probíhá pouze v případě, pokud nejsou splněny podmínky pro výše uvedené typy inhibic. Mění afinitu enzymu k substrátu a také katalytickou rychlost přeměny substrátu

2.4.4 Alzheimerova choroba (AD)

AD je progresivní neurodegenerativní onemocnění mozku s charakteristickými klinickými a patologickými příznaky.^[253–255] AD patří k nejčastějším příčinám vzniku stařecké demence a předpokládá se, že touto chorobou trpí více než 6 % světové populace starší 65-ti let.^[253–256] Jedná se o komplexní onemocnění, jehož přesná příčina vzniku nebyla doposud objasněna,^[257] z tohoto důvodu nelze toto onemocnění vyléčit, pouze zpomalit jeho průběh (o 6–12 měsíců) a léčit klinické příznaky.^[258] Jedním z těchto příznaků je nízká hladina ACh v cholinergních synapsích, která je

způsobena zvýšenou aktivitou ChEs, zejména AChE.^[223,224] Je ovšem prokázáno, že u pacientů v pozdějších stádiích AD má AChE výrazně nižší aktivitu a její funkci nahrazuje BChE.^[242,259–261]

Možností léčby klinických projevů AD, jako jsou ztráta paměti, poruchy myšlení, mluvení a dalších myšlenkových pochodů, je inhibice ChEs. Tato léčba vede ke snížení aktivity ChEs a tím k udržení správné hladiny ACh v organismu. Cholinesterázy lze inhibovat reverzibilně nebo irreverzibilně (viz výše), ovšem v léčbě AD se používají pouze reverzibilní inhibitory.^[226,262,263] Mezi inhibitory ChEs, schválené jako farmaka pro léčbu AD, patří alkaloid Galantamin,^[264] karbamát Rivastigmin,^[265] piperidinový derivát Donepezil,^[266] alkaloid Fysostigmin^[267] a alkaloid Huperzin A^[268] (Obr. 7).



Obr. 7 Inhibitory ChEs používané v léčbě AD

Tyto inhibitory ChEs mohou být použity v léčbě dalších chorob jako je myasthenia gravis, některé další demence, parazitické infekce, glaukom, zácpa nebo antagonistické uvolnění svalů.^[229,268–270]

2.4.5 Stanovení inhibiční aktivity IC_{50} a rozdělovacího koeficientu P_{ow}

Hodnota IC_{50} je měřítkem účinnosti látky při inhibici enzymatické hydrolyzy za přesně definovaných podmínek. Poskytuje informaci o koncentraci inhibitoru, která je potřebná ke zpomalení daného biologického procesu právě o polovinu. Může být udávána v logaritmických jednotkách (1).

$$pIC_{50} = -\log(IC_{50}) \quad (1)$$

Koncentrační rozdělovací koeficient P_{ow} slouží k charakterizaci distribuce inhibitoru v organismu. Popisuje rozpustnost v polárním prostředí (vodě) a afinitu

k lipofilním membránám. Je definován jako poměr rovnovážných koncentrací inhibitoru v nepolární organické fázi (*n*-oktanol) a polární fázi (voda) při konstantní teplotě (2).^[271]

$$P_{ow} = \frac{c_{n\text{-oktanol}}}{c_{voda}} \quad (2)$$

V této práci byla pro stanovení hodnoty IC₅₀ využita Ellmanova metoda,^[272–274] která je vhodná pro studium hydrolyzy acetylthiocholinu (ATCh) (Schéma 30).

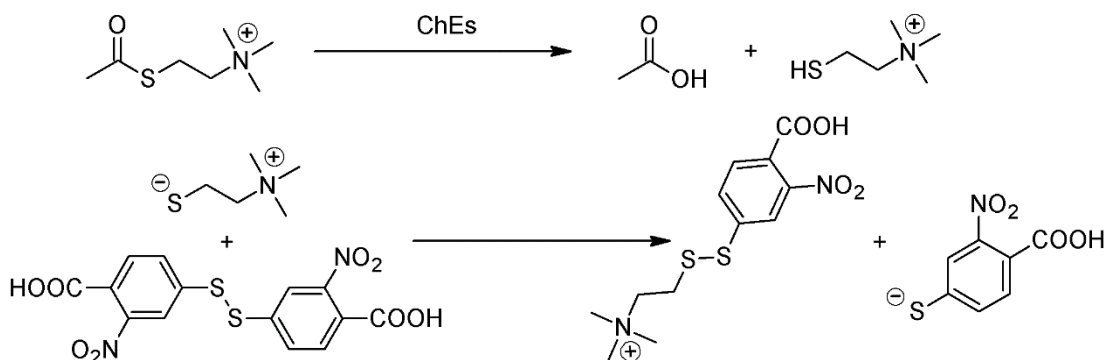


Schéma 30 Ellmanova metoda

Produkt enzymatické hydrolyzy thiocholin (TCh) reaguje s přebytkem 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoové kyseliny (DTNB) za vzniku žlutě zbarveného 5-sulfanyl-2-nitrobenzoového aniontu, který je detekován spektrofotometriky při vlnové délce 412 nm. V souladu s Lambert-Beerovým zákonem se koncentrace vzniklého produktu rovná koncentraci TCh (3).

$$A = \varepsilon \cdot d \cdot [anion] = \varepsilon \cdot d \cdot [TCh] \quad (3)$$

2.5 Cíle disertační práce

Na základě výše uvedených skutečností lze konstatovat, že chirální β -nitroalkoholy (cyklické i acyklické), chirální deriváty cyklopropanu, stejně tak jako sloučeniny obsahující karbamátovou funkční skupinu našly uplatnění v oblasti medicínální chemie. Definovaná stereochemie těchto sloučenin má zásadní vliv na jejich biologickou aktivitu. Příprava těchto sloučenin proto musí být provedena s ohledem na požadavek jejich maximální stereochemické čistoty. Toho lze dosáhnout například použitím vysoce enantioselektivní či diastereoselektivní asymetrické syntézy.

Hlavní cíle této disertační práce jsou:

1. Příprava série nových ligandů, odvozených od 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onu, jejichž měďnaté komplexy měly být studovány jako katalyzátory asymetrické Henryho reakce. Tento cíl patří mezi hlavní výzkumné směry ÚOChT Univerzity Pardubice - studium imidazolidinonových derivátů a jejich měďnatých komplexů jako enantioselektivních katalyzátorů asymetrických reakcí.
2. Provéřit katalytickou účinnost a enantioselektivitu nově připravených katalyzátorů na asymetrické Henryho reakci různých aldehydů s nitroalkany. Nejúčinnější katalyzátor použít pro přípravu klíčového intermediátu v syntéze léčiva Salmeterolu.
3. Prostudovat stereoselektivní intramolekulární Henryho reakci pro přípravu substituovaných 2-nitroindan-1-olů a prověřit možnosti asymetrické přípravy těchto derivátů.
4. Připravit a charakterizovat sérii karbamátů odvozených od léčiva Tranlycyprominu.
5. Studovat tyto karbamáty jako potenciální inhibitory cholinesteráz. Nechat stanovit cytotoxicitu jednotlivých derivátů a u vybraného karbamátu ověřit, jak se liší inhibiční aktivita jednotlivých enantiomerů.
6. Prostudovat vliv strukturálních změn (např. substituce halogenem) na fenylovém jádře a cyklopropanovém kruhu na inhibiční schopnost a cytotoxicitu těchto karbamátů.

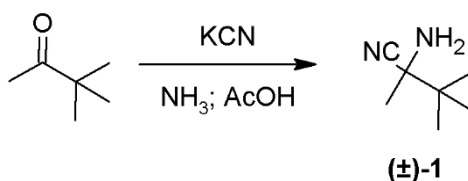
3 Experimentální část

Všechny použité komerčně dostupné chemikálie a enzymy byly zakoupeny od firmy Sigma Aldrich, Acros, Penta nebo TCI chemicals. Reakce vyžadující inertní atmosféru byly provedeny pod argonem. CHCl_3 byl sušen P_2O_5 , degasován argonem a uchováván ve tmě. Chráněný D-pinitol byl připraven podle literatury.^[275] Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu (SiO_2 60, velikost částic 0,040–0,063 mm, Merck) a bazickém silikagelu (SiO_2 60 (w/CaO 0,1%), 0,040–0,063 mm, Sigma Aldrich) při použití komerčně dostupných rozpouštědel. Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na hliníkových destičkách potažených silikagelem (SiO_2 60 F254 (Merck) s vizualizací pomocí UV lampy (254 nebo 360 nm). NMR spektra byla měřena při laboratorní teplotě na přístroji Bruker AVANCE III 400 pracujícím při 400,12 MHz (^1H) a 100,62 MHz (^{13}C) nebo Bruker ASCEND™ 500 pracujícím při 500,16 MHz (^1H) a 125,12 MHz (^{13}C). ^1H NMR spektra byla pro roztoky látek v CDCl_3 kalibrována na tetramethylsilan (δ 0,00) nebo na signál CH_3Cl (δ 7,26). Pro roztoky látek v $\text{DMSO}-d_6$ byl jako standard využit střední signál multipletu rozpouštědla (δ 2,50), v benzenu- d_6 (δ 7,16), v acetonitrilu- d_3 (δ 1,94) a pro roztoky látek v CD_3OD byl využit signál multipletu rozpouštědla (δ 3,31). ^{13}C NMR spektra byla kalibrována na centrální signál multipletu rozpouštědla (δ 77,23 v CDCl_3 , resp. δ 39,51 v $\text{DMSO}-d_6$, nebo δ 49,00 v CD_3OD). ^{13}C NMR spektra byla měřena standardním způsobem s dekaplinkem od protonů. Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla měřena metodou „dried droplet“ pomocí MALDI hmotnostního spektrometru LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) vybaveného dusíkovým UV laserem (337 nm, 60 Hz). Spektra byla měřena v režimu záznamu pozitivních iontů s rozlišením 100 000 při $m/z = 400$, výsledné spektrum tvoří průměr ze všech měření. Použitou maticí byla 2,5-dihydroxybenzoová kyselina (DHB). Optická otáčivost byla měřena na přístroji Perkin Elmer Polarimeter Model 341 se sodíkovou výbojkou při vlnové délce $\lambda = 589$ nm a teplotě 20 °C, koncentrace c je uvedena v g/100 ml rozpouštědla. Enantiomerní přebytek ee byl stanoven pomocí Watrex HPLC s UV-Vis DAD (200–800 nm) SYKAM 3240 a s chirálními kolonami: Daicel Chiralcel OD-H (250 nm× 4,6 mm), Chiralpak AD-H (250 nm× 4,6 mm) nebo Chiralcel OJ-H (250 nm× 4,6 mm). Elementární analýzy byly provedeny na automatickém analyzátoru Flash EA 2000 CHNS (ThermoFisher Scientific). Body tání byly stanoveny na mikrovýhřevném mikroskopu Boetius a nejsou korigovány.

Kinetická měření pro stanovení inhibiční aktivity byla provedena na spektrofotometru s diodovým polem Hewlett-Packard 8453. Reakce probíhala ve skleněné kyvetě o délce 1 cm. Reakční směs byla před vlastním měřením promíchána.

3.1 Příprava (*S*)- α -methyl-*terc*-leucinamidu ((*S*)-6) a (*S*)-*terc*-leucinamidu ((*S*)-7) ^[276]

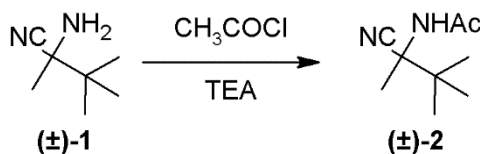
3.1.1 (\pm)-2-Amino-2,3,3-trimethylbutannitril ((\pm)-1) ^[276]



Roztok KCN (39 g; 0,6 mol), benzyltriethylamonium-chloridu (0,2 g) a 98% ledové kyseliny octové (35 ml; 0,6 mol) v 25% vodném NH₃ (450 ml; 6 mol) byl vytemperován na 40 °C. Poté byl přidán čerstvě předestilovaný pinakolon (50 g; 0,5 mol) a reakční směs byla při této teplotě míchána po dobu 3 dnů. Vzniklá bílá krystalická látka byla zfiltrována, promyta vodou a vysušena. Tímto způsobem bylo získáno 44,38 g (71 %) látky (\pm)-1 s bodem tání 132–135 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,67 (bs, 2H); 1,41 (s, 3H); 1,07 (s, 9H). Elementární analýza pro C₇H₁₄N₂ (126,2): C 66,62; H 11,18; N 22,20. Nalezeno: C 66,38; H 10,99; N 22,04.

3.1.2 (\pm)-2-Acetamido-2,3,3-trimethylbutannitril ((\pm)-2) ^[276]

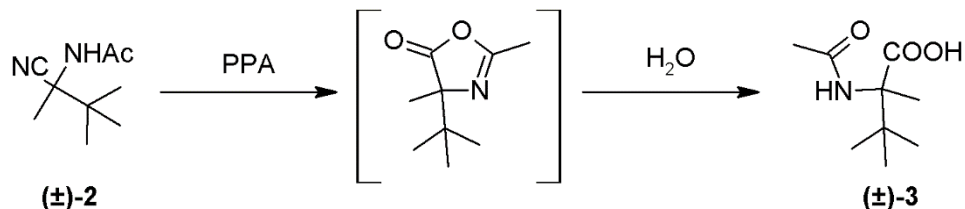


Ke směsi (\pm)-1 (18,9 g; 0,15 mol) a TEA (28 ml; 0,2 mol) v *n*-hexanu (100 ml), ochlazené na 0 °C, byl postupně přikapán CH₃COCl (10,7 ml; 0,15 mol) v *n*-hexanu (20 ml). Suspenze byla míchána přes noc za laboratorní teploty. Krystalická látka byla zfiltrována, promyta vodou a vysušena. Bylo získáno 16,83 g (67 %) produktu (\pm)-2 s bodem tání 114–116 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,69 (bs, 1H); 2,03 (s, 3H); 1,67 (s, 3H); 1,14 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 169,6; 119,7; 57,8; 37,6; 25,2; 23,9; 20,1.

Elementární analýza pro $C_9H_{16}N_2O$ (168,2) vypočteno: C 64,21; H 9,59; N 16,65; nalezeno: C 63,99; H 9,62; N 16,79.

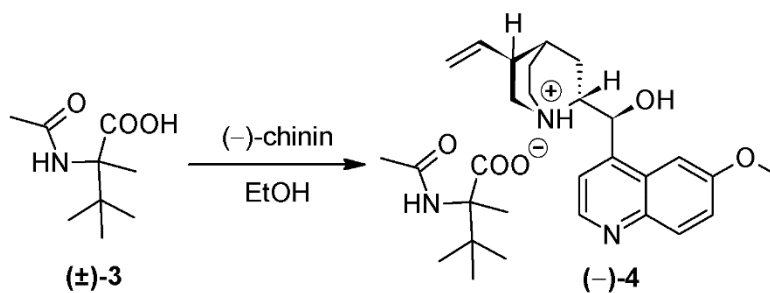
3.1.3 (\pm)-2-Acetamido-2,3,3-trimethylbutanová kyselina ((\pm)-3)^[276]



Pyrofosforečná kyselina (PPA) byla získána rozpuštěním P_2O_5 (50 g; 0,35 mol) v 85% H_3PO_4 (70 ml) za chlazení v ledové lázni. K této kyselině byla přidána látka (\pm)-2 (10,8 g; 64,4 mmol) a směs byla míchána 3 dny za laboratní teploty. Poté byla naředěna vodou (1000 ml) a míchána 30 min při teplotě 0 °C. Vzniklá sraženina byla odfiltrována, promyta vodou a vysušena. Kyselina (\pm)-3 byla získána ve formě nažloutlých krystalů o hmotnosti 8,4 g (74 %) s bodem tání 249–251 °C.

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,46 (bs, 1H); 1,83 (s, 3H); 1,33 (s, 3H); 0,96 (s, 9H). ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 173,8; 169,5; 63,9; 35,5; 25,7; 22,9; 18,3. Elementární analýza pro $C_9H_{17}NO_3$ (187,2) vypočteno: C 57,75; H 9,15; N 7,48; nalezeno: C 57,72; H 9,20; N 7,44.

3.1.4 (–)-Chininová sůl (S)-2-acetamido-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny ((–)-4)^[276]

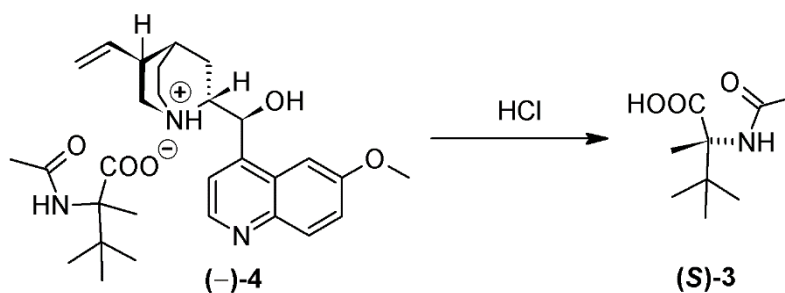


Směs (–)-chininu (35,7 g; 0,11 mol) a látky (\pm)-3 (18,7 g; 0,1 mol) v suchém EtOH (150 ml) byla míchána 10 min za laboratní teploty. Roztok byl poté ponechán volně krystalizovat po dobu 2 dnů. Vzniklé krystaly byly odfiltrovány, promyty ethanolem (3×20 ml) a vysušeny. Připravená sůl (93 % *de*) byla suspendována v suchém EtOH (100 ml) a směs byla zahřívána k varu po dobu 10 hodin. Krystaly, které vznikly po ochlazení roztoku, byly odfiltrovány, promyty EtOH (3×20 ml)

a vysušeny. Tímto způsobem bylo získáno 20,2 g chininové soli (–)-**4** s bodem tání 211–214 °C.

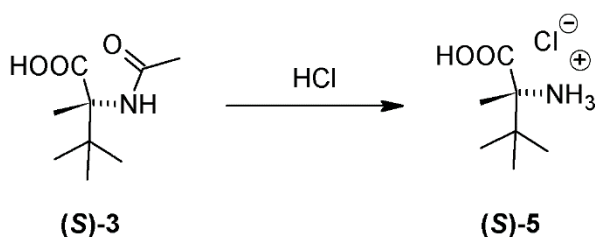
$[\alpha]_D^{20} = -112,7$ (*c* 0,5; MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,73 (d, $^3J = 4,4$ Hz, 1H); 7,99 (d, $^3J = 9,2$ Hz, 1H); 7,66 (d, $^3J = 4,4$ Hz, 1H); 7,43 (d, $^4J = 2,4$ Hz, 1H); 7,34 (m, 1H); 6,47 (bs, 1H); 6,37 (bs, 1H); 5,56 (m, 1H); 4,99 (m, 2H); 4,24 (m, 1H); 3,96 (s, 3H); 3,35 (m, 2H); 3,14 (m, 2H); 2,59 (m, 1H); 2,00 (m, 3H); 1,95 (s, 3H); 1,63 (s, 3H); 1,20 (m, 1H); 1,01 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 178,7; 169,9; 158,5; 147,8; 145,1; 144,4; 138,7; 131,9; 121,9; 119,3; 116,8; 101,5; 67,2; 66,9; 59,6; 56,4; 54,5; 44,1; 38,0; 36,7; 27,3; 26,5; 25,4; 25,0; 19,7; 18,7. Elementární analýza pro $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_5$ (511,65) vypočteno: C 68,08; H 8,08; N 8,21; nalezeno: C 68,13; H 8,01; N 8,12.

3.1.5 (S)-2-Acetamido-2,3,3-trimethylbutanová kyselina ((S)-**3**)^[276]



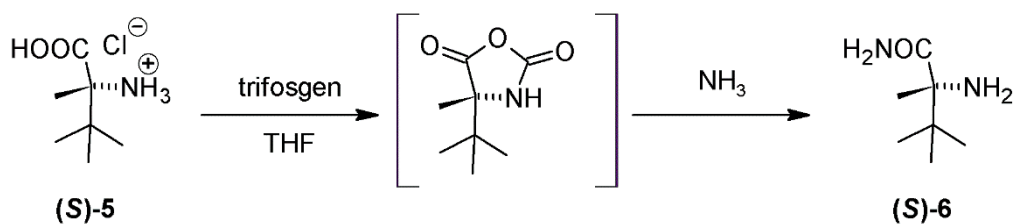
K suspenzi chininové soli (–)-**4** (17,5 g; 34,2 mmol) ve H_2O (220 ml) byla přidána 35% HCl (6 ml; 51,3 mmol). Heterogenní směs byla míchána 45 min za laboratorní teploty a poté zfiltrována, promyta vodou a vysušena. Bylo získáno 5,2 g (82 %) kyseliny (S)-**3** s bodem tání 258–261 °C.

$[\alpha]_D^{20} = 32,4$ (*c* 0,5; MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 7,50 (bs, 1H); 1,82 (s, 3H); 1,32 (s, 3H); 0,95 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 173,8; 169,5; 63,9; 35,5; 25,7; 22,9; 18,3. Elementární analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_3$ (187,2) vypočteno: C 57,75; H 9,15; N 7,48; nalezeno: C 57,62; H 8,84; N 7,23.

3.1.6 Hydrochlorid (*S*)-2-amino-2,3,3-trimethylbutanové kyseliny ((*S*)-5)^[276]

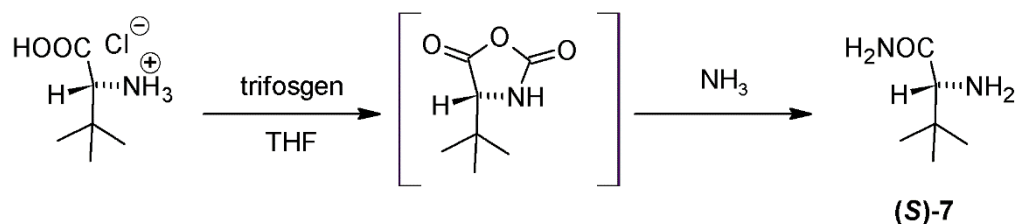
Směs (*S*)-3 (3,8 g; 0,02 mol) a 35% HCl (30 ml) byla zahřívána na 90 °C po dobu 24 hodin. Přebytečná HCl byla oddestilována za sníženého tlaku a ke zbytku byl přidán Et₂O (20 ml). Vyloučená krystalická látka byla odfiltrována a vysušena. Tímto způsobem bylo získáno 3,2 g hydrochloridu (*S*)-5 (86 %) s bodem tání 328–330 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -12,4$ (*c* 0,5; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,15 (bs, 3H); 1,35 (s, 3H); 0,97 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 172,5; 65,5; 35,7; 25,6; 18,2.

3.1.7 (*S*)-2-Amino-2,3,3-trimethylbutanamid ((*S*)-6)^[276]

Suspenze trifosgenu (1,4 g; 4,62 mmol) a hydrochloridu (*S*)-5 (1 g; 5,5 mmol) v suchém THF (10 ml) byla zahřívána 2 h na 50 °C dokud nedošlo k rozpuštění hydrochloridu. Po odpaření rozpouštědla za sníženého tlaku bylo získáno 0,9 g (98 %) *N*-karboxyanhydridu (NCA) odvozeného od příslušné aminokyseliny. K NCA byl přidán 25% vodný NH₃ (20 ml) a roztok byl míchán 24 h za laboratorní teploty. Surová směs byla extrahovaná CH₂Cl₂ (4× 25 ml), organická vrstva byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a odpařena za sníženého tlaku. Krystalická látka (*S*)-6 (0,7 g; 88 %), s bodem tání 188–190 °C, byla získána krystalizací z cyklohexanu.

$[\alpha]_D^{20} = -78,4$ (*c* 0,2; CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,37 (bs, 1H); 5,47 (bs, 1H); 1,46 (bs, 2H); 1,32 (s, 3H); 1,04 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 179,8; 62,5; 36,5; 25,9; 23,5.

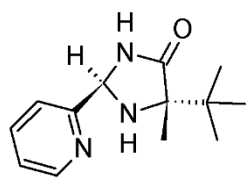
3.1.8 (*S*)-2-Amino-3,3-dimethylbutanamid ((*S*)-7)^[276]

Amid (*S*)-7 (98 %) s bodem tání 87–89 °C byl připraven metodou 3.1.7 z komerčně dostupného (*S*)-*tert*-leucinu.

$[\alpha]_D^{20} = 57,0$ (*c* 1.06; MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 6,56 (bs, 1H); 5,67 (bs, 1H); 3,11 (s, 1H); 1,54 (bs, 2H); 1,01 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 176,6; 64,6; 34,1; 26,9.

3.2 Obecný postup přípravy 5-*tert*-butyl-2-(2-pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onových ligandů (8–10)

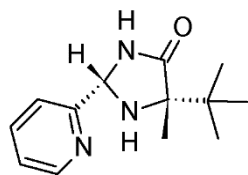
Roztok výše připraveného 2-aminoamidu (*S*)-6 nebo (*S*)-7 (2,5 mmol), pyridin-2-karbaldehydu nebo 2-acetylpyridinu (4 mmol) a dvou kapek kyseliny octové (0,25 mmol, resp. TsOH pro derivát 9) v suchém rozpouštědle (5 ml) byl zahříván po odpovídající dobu: (derivát 8: *n*-butanol, 9 h, 130 °C; derivát 9: 1,2-dichlorbenzen, 48 h, 140 °C; derivát 10: MeOH, 30 h, 70 °C). Rozpouštědlo bylo oddestilováno za sníženého tlaku, zbytek byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 (10 ml) a extrahován nasyceným roztokem Na_2CO_3 (10 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku. Sloupcovou chromatografií na silikagelu byly získány enantiomerně čisté diastereoizomery.

(2*R*,5*S*)-5-*tert*-Butyl-5-methyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on ((2*R*,5*S*)-8)(2*R*,5*S*)-8

Výtěžek: 45 %; b.t.: 125–128 °C; R_f 0,43 (SiO_2 ; aceton/EtOAc (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = 48,0$ (*c* 1; MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,57 (m, 1H); 7,73 (m, 1H); 7,43 (d, $^3J = 7,6$ Hz, 1H); 7,27 (m, 1H); 6,81 (bs, 1H); 5,51 (s, 1H); 2,79 (bs, 1H); 1,33 (s, 3H); 1,10 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 180,0; 159,5; 149,6; 137,4; 123,8; 121,4; 71,4; 66,5; 38,0; 25,6; 21,7. Elementární analýza pro $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$ (233,3) vypočteno: C 66,92; H 8,21; N 18,01; nalezeno: C 67,22; H 8,40; N 17,78.

HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{13}H_{20}N_3O$: 234,1601 ($[M+H]^+$); nalezeno: 234,1601.

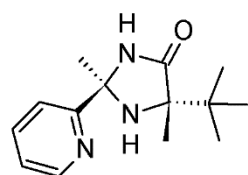
(2*S*,5*S*)-5-*tert*-Butyl-5-methyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on ((2*S*,5*S*)-8)



(2*S*,5*S*)-8

Výtěžek: 49 %; b.t.: 62–63 °C; R_f 0,33 (SiO₂; aceton/ EtOAc (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = -51,0$ (c 1,03; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,56 (m, 1H); 7,74 (m, 1H); 7,54 (d, ³ $J = 8,0$ Hz, 1H); 7,27 (m, 1H); 6,54 (bs, 1H); 5,57 (s, 1H); 2,56 (bs, 1H); 1,40 (s, 3H); 1,07 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 180,0; 159,1; 149,4; 137,3; 123,8; 121,3; 69,2; 66,3; 36,2; 25,4; 18,9. Elementární analýza pro $C_{13}H_{19}N_3O$ (233,3) vypočteno: C 66,92; H 8,21; N 18,01; nalezeno: C 66,72; H 8,41; N 17,89. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{13}H_{20}N_3O$: 234,1601 ($[M+H]^+$); nalezeno: 234,1601.

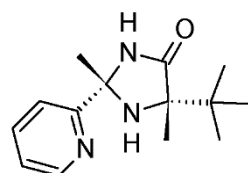
(2*R*,5*S*)-5-*tert*-Butyl-2,5-dimethyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on (2*R*,5*S*)-9)



(2*R*,5*S*)-9

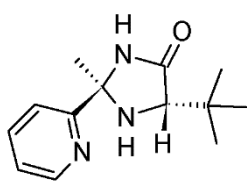
Výtěžek: 42 %; b.t.: 112–113 °C; R_f 0,65 (SiO₂; aceton/CH₂Cl₂ (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = -51,7$ (c 1,01; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,52 (d, ³ $J = 4,4$ Hz, 1H); 7,63 (m, 2H); 7,21 (bs, 1H); 7,17 (m, 1H); 2,70 (bs, 1H); 1,63 (s, 3H); 1,10 (s, 9H); 1,01 (s, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 179,7; 165,3; 148,9; 136,9; 122,5; 119,0; 73,7; 66,9; 36,5; 31,2; 25,5; 20,6. Elementární analýza pro $C_{14}H_{21}N_3O$ (247,3) vypočteno: C 67,99; H 8,56; N 16,99; nalezeno: C 68,10; H 8,67; N 16,81. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{22}N_3O$: 248,1757 ($[M+H]^+$); nalezeno: 248,1758.

(2*S*,5*S*)-5-*tert*-Butyl-2,5-dimethyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on (2*S*,5*S*)-9)

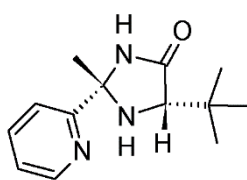


(2*S*,5*S*)-9

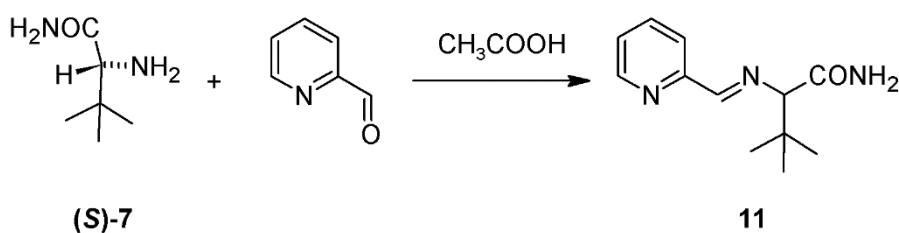
Výtěžek: 31 %; b.t.: 108–110 °C; R_f 0,41 (SiO₂; aceton/CH₂Cl₂ (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = 18,0$ (c 1,01; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,51 (d, ³ $J = 4,8$ Hz, 1H); 7,67 (m, 2H); 7,33 (bs, 1H); 7,16 (m, 1H); 2,31 (bs, 1H); 1,69 (s, 3H); 1,48 (s, 3H); 0,89 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 178,0; 164,3; 148,8; 136,8; 122,4; 119,1; 73,9; 67,0; 37,3; 33,9; 25,6; 23,4. Elementární analýza pro $C_{14}H_{21}N_3O$ (247,3) vypočteno: C 67,99; H 8,56; N 16,99; nalezeno: C 68,05; H 8,64; N 16,79. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{22}N_3O$: 248,1757 ($[M+H]^+$); nalezeno: 248,1758.

(2R,5S)-5-*tert*-Butyl-2-methyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on ((2R,5S)-10)**(2R,5S)-10**

Výtěžek: 17 %; žlutý olej; R_f 0,52 (SiO₂; aceton/CH₂Cl₂ (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = -28,4$ (c 0,5; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,53 (m, 1H); 7,68 (m, 1H); 7,62 (m, 1H); 7,19 (m, 1H); 6,69 (bs, 1H); 3,12 (s, 1H); 2,61 (bs, 1H); 1,68 (s, 3H); 1,09 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 176,9; 163,7; 149,4; 137,1; 122,7; 118,7; 74,6; 66,8; 33,4; 30,1; 26,4. Elementární analýza pro C₁₃H₁₉N₃O (233,3) vypočteno: C 66,92; H 8,21; N 18,01; nalezeno: C 66,84; H 8,44; N 18,06. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro C₁₃H₂₀N₃O: 234,1601 ([M+H]⁺); nalezeno: 234,1601.

(2S,5S)-5-*tert*-Butyl-2-methyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-on ((2S,5S)-10)**(2S,5S)-10**

Výtěžek: 29 %; žlutý olej; R_f 0,37 (SiO₂; aceton/CH₂Cl₂ (v/v; 1/1); $[\alpha]_D^{20} = 5,6$ (c 0,52; MeOH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,52 (d, ³ $J = 4,8$ Hz, 1H); 7,70 (m, 2H); 7,20 (m, 1H); 6,87 (bs, 1H); 3,56 (s, 1H); 2,64 (bs, 1H); 1,70 (s, 3H); 0,96 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 175,6; 163,6; 148,7; 137,0; 122,6; 119,3; 74,9; 66,9; 34,4; 31,2; 26,3. Elementární analýza pro C₁₃H₁₉N₃O (233,3) vypočteno: C 66,92; H 8,21; N 18,01; nalezeno: C 67,17; H 8,14; N 18,26. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro C₁₃H₂₀N₃O: 234,1601 ([M+H]⁺); nalezeno: 234,1602.

3.2.1 (S)-2-(*N*-Pyridylmethylimino)-2,3,3-trimethylbutanamid (11)

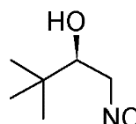
Roztok 2-aminoamidu (**S**)-**7** (0,3 g; 2 mmol), pyridin-2-karbaldehydu (0,22 g; 2,1 mmol) se dvěma kapkami octové kyseliny v suchém MeOH (4 ml) byl zahříván k varu po dobu 18 h. Rozpouštědlo bylo oddestilováno za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v CH₂Cl₂ (10 ml) a extrahován nasyceným roztokem Na₂CO₃ (10 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Odparek byl smíchán s toluenem (10 ml) a vzniklé krystaly byly odfiltrovány a vysušeny. Tímto způsobem bylo získáno 0,35 g bílých krystalů látky **11** (80 %) s bodem tání 191–193 °C.

$[\alpha]_D^{20} = 12,2$ (*c* 1,03; MeOH); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,68 (m, 1H); 8,24 (s, 1H); 8,02 (m, 1H); 7,75 (m, 1H); 7,35 (m, 1H); 6,50 (bs, 1H); 5,99 (bs, 1H); 3,56 (s, 1H); 1,03 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 173,9; 163,1; 154,0; 149,8; 136,8; 125,4; 121,4; 83,7; 35,3; 27,3. Elementární analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$ (219,3) vypočteno: C 65,73; H 7,81; N 19,16; nalezeno: C 65,69; H 7,81; N 19,07. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}$: 220,1444 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); nalezeno: 220,1445.

3.3 Obecný postup pro asymetrickou Henryho reakci

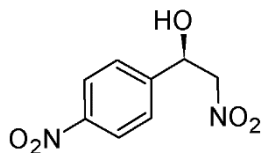
Směs ligandů **8–10** (30 μmol) a $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (4,9 mg; 27 μmol) v odpovídajícím rozpouštědle (1 ml) byla míchána za laboratorní teploty po dobu 1 h. Vzniklý čirý modrozelený roztok byl ochlazen na 6 °C a poté byl ke směsi přidán nitromethan (0,5 ml) a aldehyd (0,5 mmol). Směs byla při teplotě 10 °C míchána po dobu 6 dnů. Poté bylo rozpouštědlo za vakua odpařeno a odpovídající nitroalkoholy byly přečištěny sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 4/1).

(*R*)-3,3-Dimethyl-1-nitrobutan-2-ol

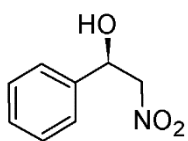


Výtěžek: 14–48 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4,54 (dd, $^3J = 13,1$; 2,1 Hz, 1H); 4,35 (dd, $^3J = 13,0$; 10,1 Hz, 1H); 4,04 (ddd, $^3J = 10,1$; 4,7; 2,1 Hz, 1H); 2,48–2,43 (m, 1H); 0,98 (s, 9H). Enantiomerní přebytek 51–97 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 15,07$ min; minoritní enantiomer $t_R = 17,47$ min.

(*R*)-1-(4-Nitrofenyl)-2-nitroethanol

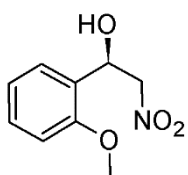


Výtěžek: 31–99 %; b.t.: 80–83 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,31–8,28 (m, 2H); 7,66–7,63 (m, 2H); 5,65–5,61 (m, 1H); 4,64–4,56 (m, 2H); 3,18 (d, $^3J = 3,8$ Hz, 1H). Enantiomerní přebytek 11–86 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 36,73$ min; minoritní enantiomer $t_R = 46,85$ min.

(R)-1-Fenyl-2-nitroethanol

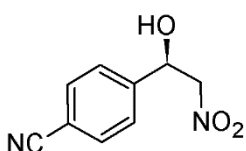
Výtěžek: 44–87 %; žlutý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,41–7,36 (m, 5H); 5,45 (dt, $^3J = 9,3; 3,3$ Hz, 1H); 4,61 (dd, $^3J = 13,1; 9,3$ Hz, 1H); 4,52 (dd, $^3J = 13,1; 3,3$ Hz, 1H); 2,80 (d, $^3J = 3,7$ Hz, 1H).

Enantiomerní přebytek 45–93 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 17,35$ min; minoritní enantiomer $t_R = 22,05$ min.

(R)-1-(2-Methoxyfenyl)-2-nitroethanol

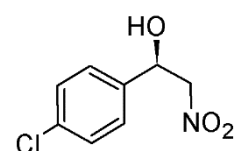
Výtěžek: 35–96 %; žlutý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,45 (dd, $^3J = 7,3; 1,5$ Hz, 1H); 7,36 (td, $^3J = 7,3; 1,5$ Hz, 1H); 7,03 (td, $^3J = 7,3; 1,1$ Hz, 1H); 6,95 (dd, $^3J = 8,3; 1,0$ Hz, 1H); 5,63 (ddd, $^3J = 9,3; 6,1; 3,0$ Hz, 1H); 4,65 (dd, $^3J = 13,1; 3,3$ Hz, 1H); 4,58 (dd, $^3J = 13,0;$

9,3 Hz, 1H); 3,91 (s, 3H); 3,28 (d, $^3J = 6,3$ Hz, 1H). Enantiomerní přebytek 37–94 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 14,02$ min; minoritní enantiomer $t_R = 16,75$ min.

(R)-1-(4-Kyanfenyl)-2-nitroethanol

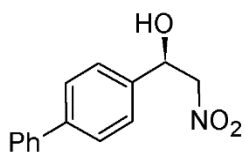
Výtěžek: 99 %; b.t.: 101–104 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,37–7,26 (m, 4H); 5,44–5,41 (m, 1H); 4,61–4,52 (m, 2H); 3,11 (s, 1H). Enantiomerní přebytek 86 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H,

mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 32,50$ min; minoritní enantiomer $t_R = 43,01$ min.

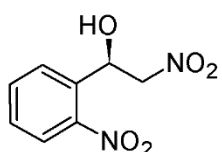
(R)-1-(4-Chlorfenyl)-2-nitroethanol

Výtěžek: 90 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,37–7,26 (m, 4H); 5,44–5,41 (dd, $^3J = 8,0; 4,0$ Hz, 1H); 4,56–4,46 (m, 2H); 3,32 (s, 1H). Enantiomerní přebytek 91 % *ee*:

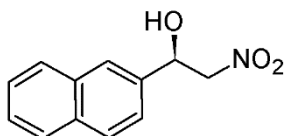
kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 9,79$ min; minoritní enantiomer $t_R = 15,15$ min.

(R)-1-(4-Fenylfenyl)-2-nitroethanol

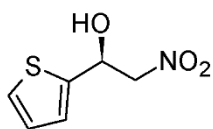
Výtěžek: 88 %; b.t.: 125–127 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,65–7,62 (m, 2H); 7,59–7,58 (m, 2H); 7,49–7,46 (m, 4H); 7,39–7,35 (m, 1H); 5,54–5,52 (dd, $^3J = 8,0; 4,0$ Hz, 1H); 4,69–4,54 (m, 2H); 2,92 (s, 1H). Enantiomerní přebytek 92 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 29,57$ min; minoritní enantiomer $t_R = 36,98$ min.

(R)-1-(2-Nitrofenyl)-2-nitroethanol

Výtěžek: 96 %; žlutý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,53 (dd, $^3J = 8,0; 1,1$ Hz, 1H); 8,08 (dd, $^3J = 8,0; 1,2$ Hz, 1H); 7,96 (td, $^3J = 7,6; 1,2$ Hz, 1H); 7,76 (td, $^3J = 7,6; 1,1$ Hz, 1H); 6,04 (dd, $^3J = 9,1; 2,2$ Hz, 1H); 4,87 (dd, $^3J = 13,5; 2,3$ Hz, 1H); 4,56 (dd, $^3J = 13,5; 9,2$ Hz, 1H); 3,26 (s, 1H). Enantiomerní přebytek 88 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 18,69$ min; minoritní enantiomer $t_R = 21,65$ min.

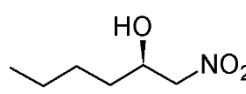
(R)-1-(Naft-2-yl)-2-nitroethanol

Výtěžek: 87 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,92–7,81 (m, 4H); 7,52–7,47 (m, 3H); 5,65 (m, 1H); 4,73–4,68 (m, 1H); 4,63–4,59 (m, 1H); 2,98 (d, $^3J = 3,6$ Hz, 1H). Enantiomerní přebytek 90 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 85/15): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 41,64$ min; minoritní enantiomer $t_R = 59,63$ min.

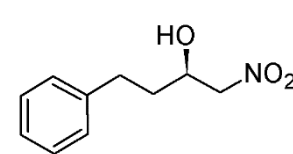
(S)-1-(Thiofen-2-yl)-2-nitroethanol

Výtěžek: 46 %; žlutý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,33 (dd, $^3J = 5,2; 1,2$ Hz, 1H); 7,06 (m, 1H); 7,01 (m, 1H); 5,73 (dd, $^3J = 9,2; 2,8$ Hz, 1H); 4,71 (dd, $^3J = 13,6; 9,6$ Hz, 1H); 4,61 (dd, $^3J = 13,2; 3,2$ Hz, 1H); 2,98 (bs, 1H). Enantiomerní přebytek 91 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 18,70$ min; minoritní enantiomer $t_R = 20,93$ min.

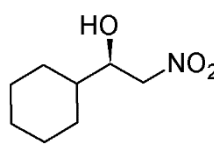
(R)-1-Nitrohexan-2-ol

 Výtěžek: 67 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4,40 (m, 2H); 4,29 (m, 1H); 2,92 (bs, 1H); 1,47 (m, 3H); 1,35 (m, 3H); 0,92 (m, 3H). Enantiomerní přebytek 90 % *ee*: kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 25,91$ min; minoritní enantiomer $t_R = 34,59$ min.

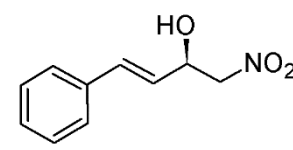
(R)-1-Nitro-4-fenylbutan-2-ol

 Výtěžek: 56 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,32–7,20 (m, 5H); 4,40 (m, 2H); 4,33 (m, 1H); 2,99–2,95 (m, 2H); 2,81–2,77 (m, 2H); 2,78 (bs, 1H); 1,99–1,80 (m, 2H). Enantiomerní přebytek 91 % *ee*: kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 90/10): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 15,00$ min; minoritní enantiomer $t_R = 18,67$ min.

(R)-1-Cyklohexyl-2-nitroethanol

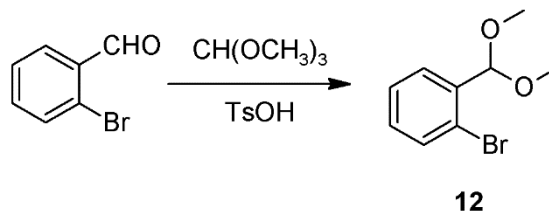
 Výtěžek: 65 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4,50–4,39 (m, 2H); 4,10 (m, 1H); 2,42 (m, 1H); 1,91–1,81 (m, 3H); 1,75–1,69 (m, 2H); 1,57–1,46 (m, 1H); 1,35–1,05 (m, 5H, alifatika-H). Enantiomerní přebytek 92 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 28,50$ min; minoritní enantiomer $t_R = 31,00$ min.

(R,E)-1-Nitro-4-fenylbut-3-en-2-ol

 Výtěžek: 43 %; žlutý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,37–7,22 (m, 5H); 6,75 (dd, $^3J = 16,0$; 7,6 Hz, 1H); 6,15 (dd, $^3J = 16,0$; 6,4 Hz, 1H); 5,06 (m, 1H); 4,51 (m, 2H); 3,22 (bs, 1H). Enantiomerní přebytek 90 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 85/15): průtoková rychlost 0,8 ml/min: detekce při $\lambda = 220$ nm: majoritní enantiomer $t_R = 39,41$ min; minoritní enantiomer $t_R = 44,41$ min.

3.4 Příprava 2-nitroindan-1-olu **23–25** inter/intramolekulární Henryho reakcí^[277,278]

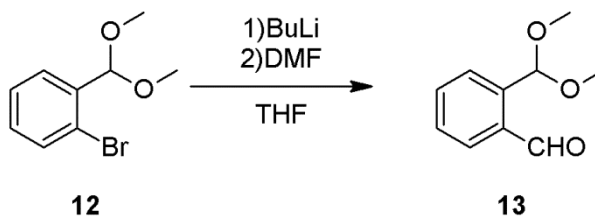
3.4.1 Příprava 1-brom-2-(dimethoxymethyl)benzenu (**12**)^[279]



K methanolickému (100 ml) roztoku 2-brombenzaldehydu (18,5 g; 0,1 mol) byl přidán trimethyl-orthoformiát (42,4 g; 0,4 mol) a TsOH (0,19 g; 1 mmol). Vzniklá směs byla zahřívána na 100 °C po dobu 12 h. Surová směs byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl promyt H₂O (2× 50 ml), k organická vrstvě byl přidán Et₂O a vodná vrstva byla extrahována Et₂O (3× 50 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny za vakua. Čistá látka **12** (22,4 g; 97 %) byla získána vakuovou destilací (90–95 °C/ 4 mbar).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,61 (m, 1H); 7,56 (m, 1H); 7,33 (m, 1H); 7,20 (m, 1H); 5,57 (s, 1H); 3,39 (s, 6H).

3.4.2 Příprava 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu (**13**)^[279]



Roztok látky **12** (10 g; 43 mmol) v suchém THF (50 ml) byl vychlazen na –78 °C. K roztoku bylo přikapáno *n*-BuLi (31 ml; 2,5M roztok v hexanu), vzniklá směs byla ponechána míchat 2 h při –78 °C. Poté byl přidán suchý DMF (6,3 g; 86 mmol) tak rychle, aby teplota exotermní reakce nepřesáhla –70 °C. Roztok byl nejprve míchán 45 min při –78 °C a poté 2 h při laboratorní teplotě. Reakce byla ukončena přidávkem H₂O (50 ml). Reakční směs se po chvíli rozdělila na dvě fáze, organická vrstva byla odpařena, k odparku byla přidána H₂O (60 ml) a směs byla extrahována EtOAc (3× 50 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny za sníženého tlaku. Látka **13** (6,24 g; 80 %) byla získána vysoce

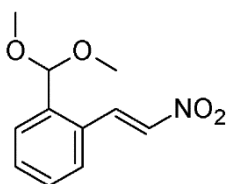
účinnou preparativní sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 10/1).

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 10,45 (s, 1H); 7,94 (m, 1H); 7,70 (m, 1H); 7,61 (m, 1H); 7,52 (m, 1H); 5,89 (s, 1H); 3,41 (s, 6H).

3.4.3 Obecný postup přípravy 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitroalken-1-yl)benzenů (14–16)^[280,281]

Aldehyd **13** (2 g; 11 mmol), nitroalkan (nitromethan, nitroethan (34 mmol) nebo fenylnitromethan (12,1 mmol)) a butan-1-amin (0,14 g; 2,2 mmol) v suchém toluenu (20 ml) byl zahříván k varu po dobu 24 h. Rozpouštědla byla následně odpařena za vakua a zbytek byl čištěn sloupcovou chromatografií na bazickém silikagelu v mobilní fázi *n*-hexan/ CH_2Cl_2 /EtOAc (v/v/v; 10/5/1).

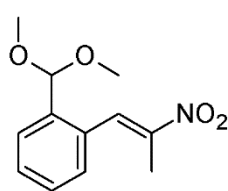
1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitroethen-1-yl)benzen (14)



14

Výtěžek: 60 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 8,57 (d, $^3J = 13,6$ Hz, 1H); 7,63 (m, 1H); 7,56 (m, 1H); 7,48 (m, 1H); 7,49 (d, $^3J = 13,6$ Hz, 1H); 7,40 (m, 1H); 5,49 (s, 1H); 3,35 (m, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 138,1; 137,7; 136,8; 131,0; 129,0; 128,6; 128,2; 127,7; 102,2; 53,3. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_4$: 224,0917 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); nalezeno: 224,0921.

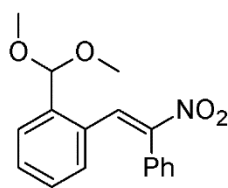
1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitroprop-1-en-1-yl)benzen (15)



15

Výtěžek: 43 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 8,34 (m, 1H); 7,65 (m, 1H); 7,42 (m, 2H); 7,25 (m, 1H); 5,39 (s, 1H); 3,32 (m, 6H); 2,29 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 147,9; 136,9; 132,2; 130,9; 128,4; 127,1; 101,4; 25,9; 13,5. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NO}_4$: 238,1074 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); nalezeno: 238,1076.

1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethen-1-yl)benzen (16)



16

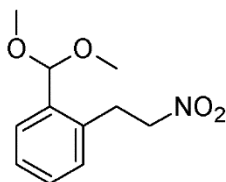
Výtěžek: 60 %; b.t.: 87–89 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 8,59 (m, 1H); 7,57 (d, $^3J = 7,7$ Hz, 1H); 7,43–7,34 (m, 3H); 7,31–7,23 (m, 3H); 7,02 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 1H); 6,79 (d, $^3J = 7,7$ Hz, 1H); 5,53 (s, 1H); 3,39 (m, 6H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 150,5; 137,9; 133,0; 130,9; 130,3; 130,2; 130,1; 129,7; 129,3; 128,7; 128,3;

127,3; 102,2; 53,4. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{17}H_{17}NO_4Na$: 322,1049 ($[M+Na]^+$); nalezeno: 322,1050.

3.4.4 Obecný postup přípravy 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitroalkyl)benzenů (17–19)^[282]

Příslušný nitroalken **14–16** (1 g; 4,2 mmol) byl rozpuštěn ve směsi *i*PrOH (13,5 ml) a $CHCl_3$ (67,5 ml), k roztoku byl přidán silikagel (8,5 g) a za intenzivního míchání byl přidán $NaBH_4$ (0,7 g; 18,2 mmol). Vzniklá reakční směs byla míchána přes noc za laboratorní teploty. Reakce byla ukončena přidávkem zředěné HCl (7% vodný roztok; 120 ml), směs byla zfiltrována a silikagel byl promyt $CHCl_3$ (3×25 ml). Organická vrstva byla promyta vodným roztokem NH_4Cl (2×25 ml) a H_2O (2×20 ml), vysušena bezvodým Na_2SO_4 a odpařena za vakua.

1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitroethyl)benzen (17)

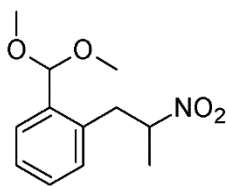


17

Výtěžek: 96 %; b.t.: 135–139 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,53 (m, 1H); 7,34–7,27 (m, 2H); 7,48 (m, 1H); 7,21 (m, 1H); 5,41 (s, 1H); 4,64 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H); 3,47 (t, $^3J = 7,6$ Hz, 2H); 3,37 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 136,0; 134,0; 130,6; 128,9; 127,7; 127,0; 103,2; 75,9; 53,4; 30,2. HR-MALDI-MS (DHB): m/z

vypočteno pro $C_{11}H_{16}NO_4$: 226,1074 ($[M+H]^+$); nalezeno: 226,1088.

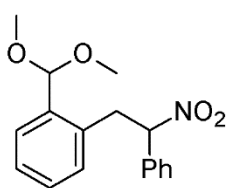
1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitroprop-1-yl)benzen (18)



18

Výtěžek: 92 %; bezbarvý olej; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,51 (m, 1H); 7,28 (m, 2H); 7,12 (m, 1H); 5,39 (s, 1H); 4,94 (m, 1H); 3,41 (m, 1H); 3,38 (s, 3H); 3,31 (m, 3H); 3,18 (m, 1H); 1,57 (d, $^3J = 5,2$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ 135,9; 134,2; 130,7; 128,9; 127,8; 127,1; 103,3; 84,3; 53,9; 52,9; 37,8; 19,3.

HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{12}H_{17}NO_4Na$: 262,1050 ($[M+Na]^+$); nalezeno: 262,1060.

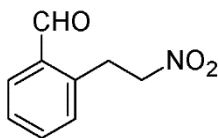
1-(Dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzen (19)**19**

Výtěžek: 96 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7,50 (m, 3H); 7,41 (m, 3H); 7,26 (m, 1H); 7,21 (m, 1H); 7,06 (m, 1H); 5,90 (m, 1H); 5,36 (s, 1H); 3,86 (m, 1H); 3,53 (m, 1H); 3,39 (s, 3H); 3,30 (s, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ 136,0; 134,9; 133,9; 130,8; 129,7; 128,9; 128,9; 127,9; 127,6; 127,1; 103,4;

92,2; 54,1; 52,9; 37,1. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{Na}$: 324,1206 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 324,1206.

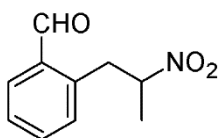
3.4.5 Obecný postup přípravy 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů (20–22)

K roztoku nitroalkanu **17–19** (3 mmol) v CH_2Cl_2 (15 ml) byla přidána směs H_2O (10 ml) a TFA (1 ml). Vzniklý heterogenní systém byl ponechán míchat přes noc za laboratorní teploty. Dvoufázový systém byl rozdělen a vodná vrstva byla promyta CH_2Cl_2 (2×10 ml). Organické vrstvy byly spojeny a vzniklý roztok byl extrahován H_2O (2×5 ml), vysušen bezvodým Na_2SO_4 a odpařen do sucha za sníženého tlaku. Derivát **22** byl následně čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/ CH_2Cl_2 /EtOAc (v/v/v; 40/20/3).

2-(2-Nitroethyl)benzaldehyd (20)**20**

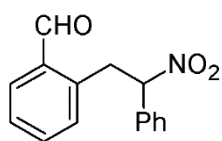
Výtěžek: 93 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 9,97 (s, 1H); 7,71 (m, 1H); 7,42 (m, 2H); 7,20 (m, 1H); 4,55 (t, $^3J = 6,8$ Hz, 2H); 3,56 (t, $^3J = 6,8$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 193,4; 137,2; 135,8; 133,9; 133,4; 131,9; 128,0; 75,3; 31,0.

HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3\text{Na}$: 202,0475 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 202,0478.

2-(2-Nitroprop-1-yl)benzaldehyd (21)**21**

Výtěžek: 85 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 10,10 (s, 1H); 7,82 (m, 1H); 7,53 (m, 2H); 7,22 (m, 1H); 4,85 (m, 1H); 3,67 (m, 1H); 3,39 (m, 1H); 1,66 (d, $^3J = 6,8$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 193,7; 137,3; 136,0; 133,9; 133,6;

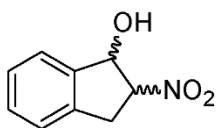
132,0; 128,1; 84,3; 38,6; 19,5. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{NO}_3$: 194,0812 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); nalezeno: 194,0814.

2-(2-Nitro-2-fenylethyl)benzaldehyd (22)**22**

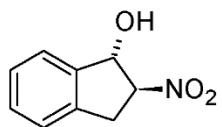
Výtěžek: 95 %; b.t.: 96–98 °C; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 10,12 (s, 1H); 7,84 (m, 1H); 7,57 (m, 1H); 7,53 (m, 2H); 7,43 (m, 3H); 7,30 (m, 1H); 5,82 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 2H); 3,91 (d, $^3J = 7,3$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 194,0; 137,0; 136,4; 134,7; 134,1; 133,8; 132,6; 129,7; 129,0; 128,3; 127,3; 91,8; 38,4. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_3\text{Na}$: 278,0786 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 278,0788.

3.4.6 Obecný postup přípravy 2-nitroindan-1-olů (23–25)

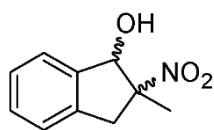
K roztoku 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydu **20–22** (1 mmol) v *i*PrOH (10 ml) byl přidán TEA (0,17 mmol) a reakce byla míchána za laboratorní teploty. Reakční doba se lišila dle typu použitého substrátu (**23**: 2,5 h; **24–25**: 4 dny). Příslušné 2-nitroindan-1-oly **23–25** byly získány odpařením rozpouštědla z reakční směsi. Majoritní cyklizát (\pm)-*trans*-**23** byl získán dvojnásobnou rekrystalizací z toluenu, vzniklé krystaly byly promyty *n*-hexanem a vysušeny.

***cis/trans*-2-Nitroindan-1-ol (23)****23**

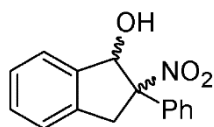
Výtěžek: 98 %; b.t.: 109–112 °C; poměr diastereoizomerů 5:1 (*trans*:*cis*); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,47–7,24 (m, 4H (*trans*)); 7,47–7,24 (m, 4H (*cis*)); 5,76 (m, 1H (*trans*)); 5,53 (m, 1H (*cis*)); 5,33 (m, 1H (*cis*)); 5,09 (m, 1H (*trans*)); 3,80 (m, 1H (*cis*)); 3,55 (m, 2H (*trans*)); 3,36 (m, 1H (*cis*)). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 139,9; 137,0; 129,7; 128,3; 125,0; 124,5; 92,8; 79,6; 34,7 (*trans* – majoritní diastereoizomer). HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{NO}_3$: 180,0655 ($[\text{M}+\text{H}]^+$); nalezeno: 180,0657.

(\pm)-*trans*-2-Nitroindan-1-ol ((\pm)-*trans*-23)**(+/-)-*trans*-23**

Výtěžek: 44 %; b.t.: 110–112 °C; ^1H NMR (400 MHz, MeOD): δ 7,38 (m, 1H); 7,30 (m, 2H); 7,24 (m, 1H); 5,61 (m, 1H); 5,12 (m, 1H); 4,68 (s, 1H); 3,55 (m, 1H); 3,43 (m, 1H). ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD): δ 142,1; 138,7; 130,2; 128,8; 125,7; 125,4; 94,4; 80,7; 36,0.

***cis/trans*-2-Nitro-2-methylindan-1-ol (24)****24**

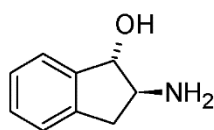
Výtěžek: 97 %; b.t.: 74–76 °C; poměr diastereoizomerů 4,5:1 (*trans*:*cis*); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,45–7,27 (m, 4H (*trans*)); 7,45–7,27 (m, 4H (*cis*)); 5,78 (m, 1H (*trans*)); 5,15 (m, 1H (*cis*)); 4,06 (m, 1H (*cis*)); 3,77 (m, 1H (*trans*)); 3,29 (m, 1H (*trans*)); 3,15 (m, 1H (*cis*)); 1,79 (s, 3H (*cis*)); 1,67 (s, 3H (*trans*)). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 139,8; 139,5; 139,0; 136,4; 129,7; 129,0; 127,8; 127,7; 125,3; 125,0; 124,7; 124,3; 96,8; 95,5; 81,0; 79,6; 41,5; 40,8; 24,2; 20,0. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₀H₁₂NO₃: 194,0812 ([M+H]⁺); nalezeno: 194,0813.

***cis/trans*-2-Fenyl-2-nitroindan-1-ol (25)****25**

Výtěžek: 86 %; bezbarvý olej; poměr diastereoizomerů 2:1 (*trans*:*cis*); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,69 (m, 2H (*cis*)); 7,48 (m, 2H (*cis*)); 7,42 (m, 4H (*trans*)); 7,38 (m, 5H (*trans*)); 7,35 (m, 1H (*cis*)); 7,35–7,28 (m, 4H (*cis*)); 6,16 (m, 1H (*trans*)); 5,71 (m, 1H (*cis*)); 4,29 (m, 1H (*cis*)); 4,16 (m, 1H (*trans*)); 3,92 (m, 1H (*trans*)); 3,60 (m (*cis*)). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 140,4; 140,5; 138,1; 137,0; 136,2; 129,8; 129,7; 129,6; 129,4; 128,9; 128,9; 128,1; 128,0; 127,3; 127,0; 125,1; 124,7; 124,1; 103,1; 101,6; 80,7; 79,2; 41,0; 39,7. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₅H₁₃NO₃Na: 278,0786 ([M+Na]⁺); nalezeno: 278,0788.

3.5 Příprava 2-aminoindan-1-olů (26–28)

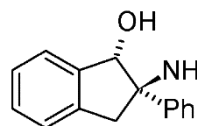
Roztok 2-nitroindan-1-olu (**23–25**) (1 mmol) v MeOH (85 ml) za přítomnosti PtO₂ (0,2 mmol) byl hydrogenován mírným tlakem vodíku^[283] (1,05 atm) za laboratorní teploty přes noc. Rozpouštědlo bylo oddestilováno za sníženého tlaku a destilační zbytek byl podroben sloupcové chromatografii k získání majoritního diastereoizomeru.

(±)-*trans*-2-Aminoindan-1-ol ((±)-*trans*-26)**(+/-)-*trans*-26**

Výtěžek: 66 %; b.t.: 77–80 °C; R_f 0,42 (SiO₂; MeOH/1% NH₄OH); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (m, 1H); 7,23 (m, 2H); 7,18 (m, 1H); 4,80 (d, ³J = 8,0 Hz, 1H); 3,20 (m, 1H); 2,60 (m, 1H); 2,35 (bs, 4H). ¹³C NMR (100 MHz, MeOD): δ 143,9; 140,0; 129,5;

128,3; 125,8; 125,2; 81,2; 62,1; 36,8. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_9H_{12}NO$: 150,0913 ($[M+H]^+$); nalezeno: 150,0916.

(±)-*trans*-2-Amino-2-fenylindan-1-ol ((±)-*trans*-28)



Výtěžek: 8 %; b.t.: 160–162 °C; R_f 0,48 (SiO₂; *i*PrOH/1% NH₄OH;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,51 (m, 2H); 7,46–7,25 (m, 7H); 4,98 (s, 1H); 3,80 (m, 1H); 3,07 (m, 1H); 1,81 (bs, 3H). ¹³C NMR

(+/-)-*trans*-28

(100 MHz, CDCl₃): δ 143,0; 141,9; 129,2; 128,9; 127,7; 127,4;

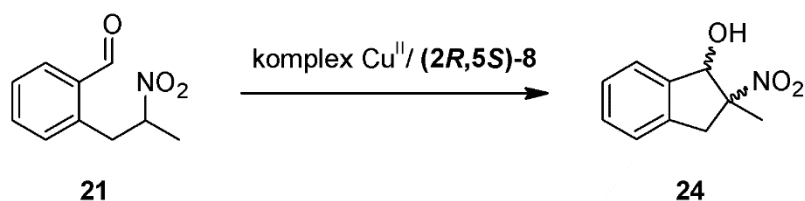
127,2; 125,9; 125,5; 84,1; 68,2; 44,9. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{15}H_{16}NO$: 226,1226 ($[M+H]^+$); nalezeno: 226,1229.

3.6 Obecný postup ¹H NMR studie cyklizace látek 20–22 v NMR kyvetě

Do NMR kyvety byl předložen roztok 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydu **20-22** (0,052 mmol) v odpovídající deuterovaném rozpouštědle (0,5 ml). Báze (3 μ l resp. 6 μ l) byla přidána bezprostředně před začátkem měření.

3.7 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce

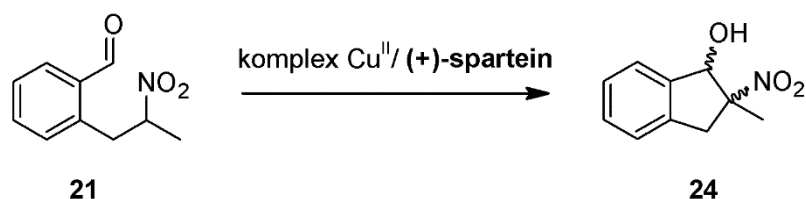
3.7.1 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná měďnatým komplexem Cu(II)/(2*R*,5*S*)-8



Směs ligandu **(2*R*,5*S*)-8** (15 μ mol) a Cu(OAc)₂ (14 μ mol) nebo bezvodého CuCl₂ (14 μ mol) (jako báze byl v tomto případě použit TEA (21 μ l)) v *i*PrOH (0,5 ml) nebo v suchém CH₂Cl₂ (0,5 ml) byla míchána za laboratorní teploty po dobu 30 min. K vzniklému roztoku byla přidána látka **21** (50 mg; 0,25 mmol) a směs byla míchána při laboratorní teplotě (4 dny v případě Cu(OAc)₂ a v případě CuCl₂ 8 týdnů). Měďnatý komplex byl odstraněn „flash“ chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1) a filtrát byl odpařen za vakua. Bylo získáno 50 mg směsi, která dle ¹H NMR obsahovala produkt cyklizace pouze v případě reakce katalyzované komplexem CuCl₂/TEA/**(2*R*,5*S*)-8** provedeným v suchém CH₂Cl₂. Směs obsahovala výchozí látku **21** a produkt **24** (2:1) ve formě *cis/trans* izomerů v poměru 1:2,3. Surová směs byla

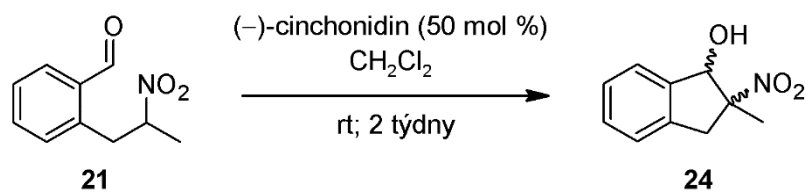
čištěna na sloupci silikagelu v mobilní fázi *n*-hexan/Et₂O (v/v; 5/1) a cyklizát **24** (20 mg; 33 %) byl získán ve formě racemátu. Enantiomerní přebytek <3 % *ee*: kolona Chiralpak AD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 1,0 ml/min: detekce při $\lambda = 230$ nm: *trans* – enantiomer 1: $t_R = 24,2$ min; enantiomer 2: $t_R = 26,9$ min; *cis* – enantiomer 1: $t_R = 28,6$ min; enantiomer 2: $t_R = 30,1$ min.

3.7.2 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce katalyzovaná měďnatým komplexem CuCl₂/(+)-spartein^[284]



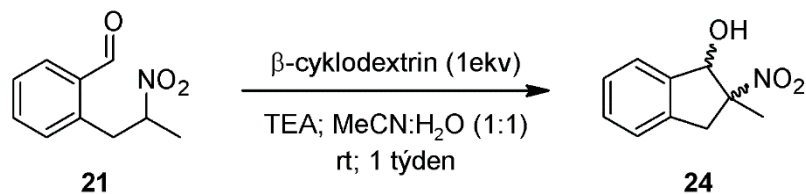
Ligand (+)-spartein (40 μ mol) a bezvodý CuCl₂ (40 μ mol) v absolutním MeOH (0,2 ml) byl míchán pod inertní atmosférou za laboratorní teploty po dobu 4 h. K vzniklému roztoku byla přidána látka **21** (50 mg; 0,25 mmol) v absolutním MeOH (0,2 ml). Směs byla při laboratorní teplotě míchána po dobu 14 dnů. Měďnatý komplex byl odstraněn „flash“ chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1) a filtrát byl odpařen za vakua. Bylo získáno 50 mg směsi, která dle ¹H NMR neobsahovala žádný produkt cyklizace.

3.7.3 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce - kinetická rezoluce



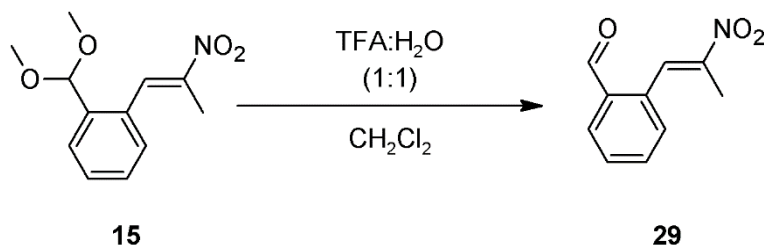
Roztok nitroaldehydu **21** (20 mg; 0,1 mmol) a (-)-cinchonidinu (15 mg; 51 μ mol) v suchém CH₂Cl₂ (1 ml) byl míchán při pokojové teplotě po dobu 14 dnů. Poté byla reakční směs naředěna CH₂Cl₂ (15 ml) a extrahována (3× 15 ml) vodným roztokem kyseliny citrónové (7M). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny za sníženého tlaku. Bylo získáno 20 mg surové směsi, která byla čištěna sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/Et₂O (v/v; 5/1). Cyklizát **24** (9 mg; 45 %) byl získán ve formě racemátu s poměrem *cis/trans* izomerů 1:3.

3.7.4 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce – inkluze reaktantů do β -cyklodextrinu^[285]



β -Cyclodextrin (114 mg; 0,1 mmol) byl suspendován v MeCN a H₂O (v/v; 1/1) po dobu 10 min a následně byl přidán nitroaldehyd **21** (20 mg; 0,1 mmol) a směs byla ponechána v ultrazvuku 1 h. Poté byl přidán TEA (14 μ l; 0,1 mmol) a směs byla míchána po dobu 7 dnů. Reakční směs byla naředěna H₂O (15 ml) a extrahována EtOAc (3 \times 10 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a odpařena za vakua. Surová směs (20 mg) obsahovala dle ¹H NMR cyklizát **24** v poměru diastereoizomerů *cis/trans* 1:4 a nečistoty. Tato směs byla podrobena sloupcové chromatografii *n*-hexan/Et₂O (v/v; 5/1) a cyklizát **24** (5 mg; 25 %) byl získán ve formě racemátu s poměrem *cis/trans* izomerů 1:7.

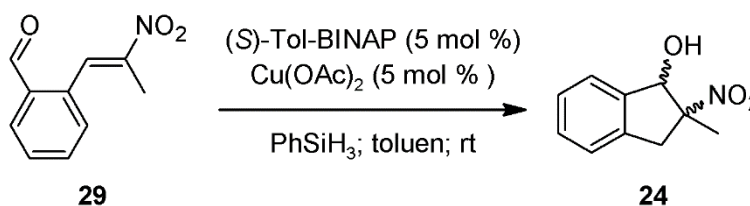
3.7.5 2-(2-Nitroprop-2-en-1-yl)benzaldehyd (**29**)



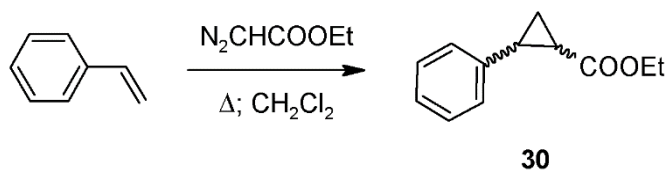
K roztoku nitroalkenu **15** (1 g; 3,8 mmol) v CH₂Cl₂ (20 ml) byla přidána směs H₂O (12 ml) a TFA (1,2 ml). Vzniklý heterogenní systém byl ponechán míchat přes noc za laboratorní teploty. Dvoufázový systém byl rozdělen a vodná vrstva byla promyta CH₂Cl₂ (2 \times 10 ml). Organické vrstvy byly spojeny a vzniklý roztok byl extrahován H₂O (2 \times 5 ml), vysušen bezvodým Na₂SO₄ a odpařen do sucha za sníženého tlaku. Tímto způsobem byla připravena látka **29** ve formě bezbarvého oleje (0,6 g; 72 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 10,15 (s, 1H); 8,52 (s, 1H); 7,95 (m, 1H); 7,67 (m, 2H); 7,36 (m, 1H); 2,26 (s, 3H).

3.7.6 Reduktivní nitroaldolová kondenzace



Roztok $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (9,5 mg; 50 μmol) a (*S*)-Tol-BINAP (37 mg; 0,055 mmol) v suchém toluenu (7 ml) byl míchán pod inertní atmosférou za laboratorní teploty po dobu 2 h. Poté byl přidán fenylsilan (3,8 μl ; 5 mol %) a směs byla míchána dalších 30 min. K tomuto roztoku byl přidán nitroldehyd **29** (0,2 g; 1 mmol) v toluenu (2 ml) a reakční směs byla míchána další hodinu. Následně byl přikapáván roztok fenylsilanu (180 μl) v toluenu (1 ml) po dobu 14 h a vzniklý roztok byl míchán dalších 5 h pod inertní atmosférou. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1). Produkt cyklizace **24** nebyl detekován.

3.8 Příprava *cis/trans*-(±)-ethyl-2-fenylcyclopropankarboxylátu (**30**)^[286]

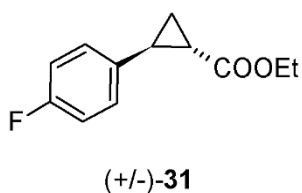
Roztok stabilizovaného styrenu (34,4 g; 0,33 mol), hydrochinonu (5 mg) a ethyl-diazoacetátu (40 g; 0,35 mol) v CH_2Cl_2 (250 ml) byl po kapkách přidán k vroucímu styrenu (17,7g; 0,167 mol). Vzniklá směs byla zahřívána k varu 4 h. Směs rozpouštědla a styrenu byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl čištěn vakuovou destilací (103–120 °C/1 mbar). Tímto způsobem byla získána směs *cis/trans* izomerů látky (±)-**30** v poměru (1:2) ve formě žlutého oleje (47,2 g; 62 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,28 (m, 5H (*trans*)); 7,27 (m, 5H (*cis*)); 4,25 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H (*trans*)); 3,95 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H (*cis*)); 2,66 (m, 1H (*cis*)); 2,60 (m, 1H (*trans*)); 2,16 (m, 1H (*cis*)); 1,99 (m, 1H (*trans*)); 1,80 (m, 1H (*cis*)); 1,68 (m, 1H (*trans*)); 1,37 (m, 1H (*cis*)); 1,36 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 3H (*trans*)); 1,34 (m, 1H (*trans*)); 1,06 (t, $^3J = 7,1$ Hz, 3H (*cis*)).

3.9 Příprava (\pm)-*trans*-ethyl-2-(4-halogenfenyl)cyclopropankarboxylátů ((\pm)-31–33)^[287]

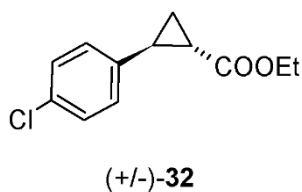
Roztok $\text{CuBF}_4 \cdot 4\text{MeCN}$ (8,5 mg; 27 μmol) a styrenu (4-halogenstyrenu) (5,4 mmol) v suchém CH_2Cl_2 (9 ml) byl míchán pod inertní atmosférou za laboratorní teploty. Ke směsi byl během 5 h přikapán roztok ethyl-diazoacetátu (0,31 g; 2,7 mmol) v CH_2Cl_2 (3 ml) a vzniklý roztok byl míchán dalších 17 h pod inertní atmosférou. Reakční směs byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-pentan/EtOAc (v/v; 10/1).

(\pm)-*trans*-Ethyl-2-(4-fluorfenyl)cyclopropan-1-karboxylát ((\pm)-31)^[287]



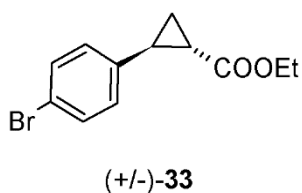
Výtěžek: 50 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,04 (m, 2H); 6,94 (m, 2H); 4,16 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H); 2,50 (m, 1H); 1,84 (m, 1H); 1,57 (m, 1H); 1,24 (m, 1H); 1,27 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 3H).

(\pm)-*trans*-Ethyl-2-(4-chlorfenyl)cyclopropan-1-karboxylát ((\pm)-32)^[287]



Výtěžek: 69 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,23 (m, 2H); 7,03 (m, 2H); 4,17 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H); 2,49 (m, 1H); 2,08 (m, 1H); 1,60 (m, 1H); 1,34 (m, 1H); 1,28 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 3H).

(\pm)-*trans*-Ethyl-2-(4-bromfenyl)cyclopropan-1-karboxylát ((\pm)-33)^[287]



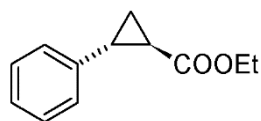
Výtěžek: 70 %; bezbarvý olej; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,37 (m, 2H); 6,96 (m, 2H); 4,17 (q, $^3J = 7,2$ Hz, 2H); 2,46 (m, 1H); 1,85 (m, 1H); 1,60 (m, 1H); 1,26 (m, 1H); 1,28 (t, $^3J = 7,2$ Hz, 3H).

3.10 Příprava opticky čistých ethyl esterů 2-fenylcyclopropan-1-karboxylové kyseliny (30)^[197]

Roztok (1*S*,2*S*)-2,2'-isopropylidenbis[(4*S*)-4-*tert*-butyl-2-oxazolinu] (8 mg; 28 μmol) a $(\text{CuOTf})_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ (7 mg, 27 μmol) v suchém CHCl_3 (9 ml) byl míchán pod inertní atmosférou za laboratorní teploty po dobu 1 h. Poté byl najednou přidán styren (1,6 ml; 14 mmol) a postupně během 5 h přikapán roztok ethyl-diazoacetátu (0,31 g; 2,7 mmol) v CHCl_3 (3 ml). Reakční směs byla po ukončení přikapávání

míchána pod inertní atmosférou dalších 17 h, odpařena za sníženého tlaku a výsledná směs byla čištěna sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-pentan/EtOAc (v/v; 10/1).

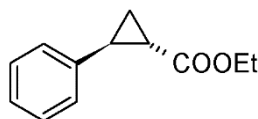
(-)-(1*R*,2*R*)-Ethyl-2-fenylcyklopropan-1-karboxylát ((1*R*,2*R*)-30)



(1*R*,2*R*)-30

Výtěžek: 62 %; bezbarvý olej; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,28 (m, 2H); 7,20 (m, 1H); 7,10 (m, 2H); 4,17 (q, ³*J* = 7,1 Hz, 2H); 2,52 (m, 1H); 1,90 (m, 1H); 1,60 (m, 1H); 1,30 (m, 1H); 1,29 (t, ³*J* = 7,1 Hz, 3H). Enantiomerní přebytek 97 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 0,5 ml/min: detekce při λ = 220 nm: majoritní enantiomer *t_R* = 10,52 min; minoritní enantiomer *t_R* = 16,07 min.

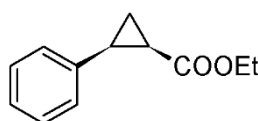
(+)-(1*S*,2*S*)-Ethyl-2-fenylcyklopropan-1-karboxylát ((1*S*,2*S*)-30)



(1*S*,2*S*)-30

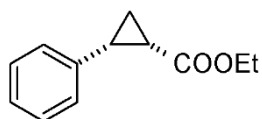
Látka byla připravena výše popsanou metodou **3.10** s použitím (1*R*,2*R*)-2,2'-isopropylidenbis[(4*S*)-4-*tert*-butyl-2-oxazolinu] jako chirálního ligandu. Výtěžek: 66 %; bezbarvý olej; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,28 (m, 5H); 4,19 (q, ³*J* = 7,1 Hz, 2H); 2,54 (m, 1H); 1,92 (m, 1H); 1,62 (m, 1H); 1,32 (m, 1H); 1,31 (t, ³*J* = 7,1 Hz, 3H). Enantiomerní přebytek 96 % *ee*: kolona Chiralcel OD-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 97/3): průtoková rychlost 0,5 ml/min: detekce při λ = 220 nm: majoritní enantiomer *t_R* = 10,49 min; minoritní enantiomer *t_R* = 15,78 min.

(-)-(1*R*,2*S*)-Ethyl-2-fenylcyklopropan-1-karboxylát ((1*R*,2*S*)-30)

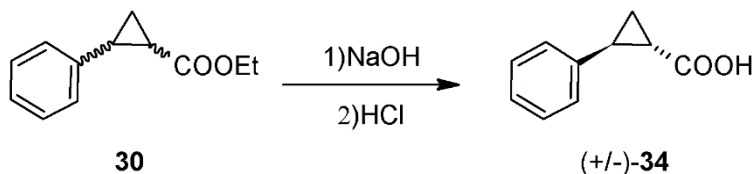


(1*R*,2*S*)-30

Výtěžek: 17 %; bezbarvý olej; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,22 (m, 5H); 3,87 (q, ³*J* = 7,1 Hz, 2H); 2,57 (m, 1H); 2,08 (m, 1H); 1,71 (m, 1H); 1,33 (m, 1H); 0,97 (t, ³*J* = 7,1 Hz, 3H). Enantiomerní přebytek 97 % *ee*: kolona Chiralcel OJ-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 98/2): průtoková rychlost 1,0 ml/min: detekce při λ = 220 nm: majoritní enantiomer *t_R* = 9,65 min; minoritní enantiomer *t_R* = 18,89 min.

(+)-(1*S*,2*R*)-Ethyl-2-fenylcyklopropan-1-karboxylát ((1*S*,2*R*)-30**)****(1*S*,2*R*)-**30****

Látka byla připravena výše popsanou metodou **3.10** s použitím (1*R*,2*R*)-2,2'-isopropylidenbis[(4*S*)-4-*tert*-butyl-2-oxazolinu] jako chirálního ligandu. Výtěžek: 19 %; bezbarvý olej; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,25 (m, 5H); 3,90 (q, ³*J* = 7,1 Hz, 2H); 2,60 (m, 1H); 2,12 (m, 1H); 1,74 (m, 1H); 1,36 (m, 1H); 1,00 (t, ³*J* = 7,1 Hz, 3H). Enantiomerní přebytek 95% *ee*: kolona Chiralcel OJ-H, mobilní fáze: *n*-hexan/*i*PrOH (v/v; 98/2): průtoková rychlost 1,0 ml/min: detekce při λ = 220 nm: majoritní enantiomer *t_R* = 9,62 min; minoritní enantiomer *t_R* = 18,78 min.

3.11 Příprava (±)-*trans*-2-fenylcyklopropan-1-karboxylové kyseliny ((±)-34**)****30****(±)-**34****

K roztoku NaOH (12 g; 0,3 mol) ve směsi EtOH/H₂O (110/15 ml) byla přidána směs esterů *cis/trans* **30** (1:2) (47,2 g; 0,248 mol). Roztok byl zahříván k varu po dobu 9 h a pak byla rozpouštědla odpařena za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v horké vodě (250 ml) a vzniklá sraženina byla odfiltrována. Filtrát byl zahuštěn za sníženého tlaku na objem cca 50 ml a chlazen v ledové lázni. Poté bylo pH roztoku upraveno koncentrovanou HCl na hodnotu cca 1. Následnou filtrací byla získána směs kyselin *cis/trans* (±)-**34** (38 g; 94 %), která byla promyta ledovou vodou a rekrystalizována z H₂O. Druhou krystalizací byla získána čistá *trans* forma kyseliny (±)-**34** ve formě bezbarvých krystalů (12,9 g; 51 %) s bodem tání 89–91 °C.

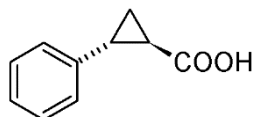
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 11,39 (s, 1H); 7,20 (m, 5H); 2,60 (m, 1H); 1,90 (ddd, ³*J* = 8,4; 5,2; 4,0 Hz, 1H); 1,66 (m, 1H); 1,40 (ddd, ³*J* = 8,4; 6,8; 4,8 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): 179,9; 139,4; 128,4; 126,6; 126,1; 27,0; 23,9; 17,4.

3.12 Příprava 2-fenylcyklopropan-1-karboxylových kyselin (34–37**)**

K roztoku NaOH (1 g; 25 mmol) v EtOH/H₂O (85/15; v/v; 4 ml) byl přidán roztok opticky čistého esteru **30** nebo halogenovaných esterů (±)-**31–33** (2,21 mmol) v EtOH (9 ml) a reakční směs byla míchána 5 h za laboratorní teploty. Rozpouštědla

byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn ve vodě (30 ml) protřepán CH_2Cl_2 (2×15 ml). Vodná vrstva byla smíchána s koncentrovanou HCl (výsledné pH roztoku $\sim 1-2$) a extrahována CH_2Cl_2 (3×15 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na_2SO_4 a odpařeny za vakua.

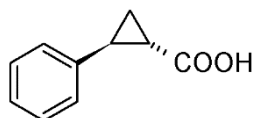
(-)-(1R,2R)-2-Fenylcyklopropan-1-karboxylová kyselina ((1R,2R)-34)



(1R,2R)-34

Výtěžek: 96 %; bezbarvý olej; $[\alpha]_D^{20} = -357,2$ (c 1,00; CHCl_3);^[72] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 11,88 (bs, 1H); 7,20 (m, 5H); 2,60 (ddd, $^3J = 9,3; 6,7; 4,1$ Hz 1H); 1,89 (ddd, $^3J = 8,4; 5,2; 4,1$ Hz, 1H); 1,66 (dt, $^3J = 9,6; 4,9$ Hz 1H); 1,39 (ddd, $^3J = 8,3; 6,7; 4,6$ Hz, 1H).

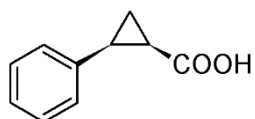
(+)-(1S,2S)-2-Fenylcyklopropan-1-karboxylová kyselina ((1S,2S)-34)



(1S,2S)-34

Výtěžek: 97 %; bezbarvý olej; $[\alpha]_D^{20} = +358,9$ (c 1,00; CHCl_3);^[72] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 10,26 (bs, 1H); 7,20 (m, 5H); 2,60 (ddd, $^3J = 9,3; 6,7; 4,1$ Hz 1H); 1,90 (ddd, $^3J = 8,4; 5,2; 4,1$ Hz, 1H); 1,66 (dt, $^3J = 9,6; 4,9$ Hz 1H); 1,40 (ddd, $^3J = 8,3; 6,7; 4,6$ Hz, 1H).

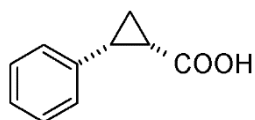
(-)-(1R,2S)-2-Fenylcyklopropan-1-karboxylová kyselina ((1R,2S)-34)



(1R,2S)-34

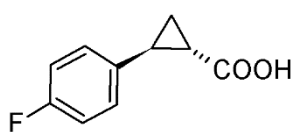
Výtěžek: 82 %; bezbarvý olej; $[\alpha]_D^{20} = -39,5$ (c 1,00; CHCl_3);^[288] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,23 (m, 5H); 2,61 (ddd, $^3J = 8,8; 7,6; 5,2$ Hz 1H); 2,03 (ddd, $^3J = 9,4; 7,6; 5,0$ Hz, 1H); 1,65 (dt, $^3J = 7,7; 5,3$ Hz 1H); 1,35 (ddd, $^3J = 8,8; 7,7; 5,1$ Hz, 1H).

(+)-(1S,2R)-2-Fenylcyklopropan-1-karboxylová kyselina ((1S,2R)-34)

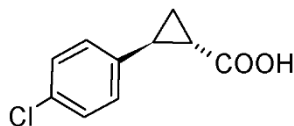


(1S,2R)-34

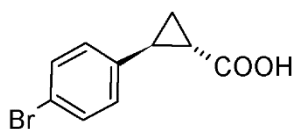
Výtěžek: 95 %; bezbarvý olej; $[\alpha]_D^{20} = +45,2$ (c 1,00; CHCl_3);^[288] $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,23 (m, 5H); 2,62 (ddd, $^3J = 8,8; 7,7; 5,0$ Hz 1H); 2,03 (ddd, $^3J = 9,3; 7,7; 5,6$ Hz, 1H); 1,65 (dt, $^3J = 7,7; 5,3$ Hz 1H); 1,36 (ddd, $^3J = 8,8; 7,7; 5,1$ Hz, 1H).

(±)-*trans*-2-(4-Fluorfenyl)cyklopropan-1-karboxylová kyselina ((±)-35)^[289]**(+/-)-35**

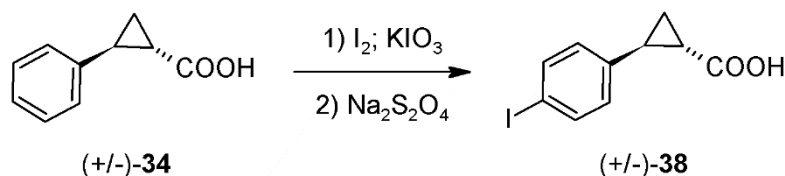
Výtěžek: 96 %; b.t.: 104–106 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,08 (m, 2H); 6,98 (m, 2H); 2,59 (m, 1H); 1,86 (m, 1H); 1,66 (m, 1H); 1,37 (m, 1H).

(±)-*trans*-2-(4-Chlorfenyl)cyklopropan-1-karboxylová kyselina ((±)-36)^[289]**(+/-)-36**

Výtěžek: 75 %; b.t.: 116–117 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 10,99 (bs, 1H); 7,31 (m, 2H); 7,10 (m, 2H); 2,63 (m, 1H); 1,93 (m, 1H); 1,73 (m, 1H); 1,49 (m, 1H).

(±)-*trans*-2-(4-Bromfenyl)cyklopropan-1-karboxylová kyselina ((±)-37)^[290]**(+/-)-37**

Výtěžek: 99 %; b.t.: 119–121 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,41 (m, 2H); 6,97 (m, 2H); 2,56 (m, 1H); 1,87 (m, 1H); 1,67 (m, 1H); 1,37 (m, 1H).

3.13 Příprava (±)-*trans*-2-(4-jodfenyl)cyklopropan-1-karboxylové kyseliny ((±)-38)^[291]

K roztoku H₂SO₄ (10% vodný roztok; 1 ml) v kyselině octové (4 ml) byla přidána kyselina (±)-**34** (0,2 g; 1,23 mmol), jód (0,173 g, 0,68 mmol) a KIO₃ (0,61 g; 0,28 mmol). Reakční směs byla zahřívána k varu po dobu 4 h a následně byla v několika dávkách přidána kyselina octová (20 ml). Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakce zastavena 1M vodným roztokem Na₂S₂O₄ (100 ml). Směs byla promyta EtOAc (3× 100 ml), organické vrstvy byly spojeny, promyty nasyceným roztokem NaCl, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a roztok byl odpařen za vakua. Surová kyselina byla rekrystalizována z *n*-heptanu. Produkt (±)-**38** byl získán ve formě bílých krystalů 0,15 g (42 %) s bodem tání 155–156 °C.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,61 (m, 2H); 6,86 (m, 2H); 2,54 (m, 1H); 1,87 (m, 1H); 1,67 (m, 1H); 1,37 (m, 1H).

3.14 Příprava *O*-alkyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamátů 39–62^[51,292]

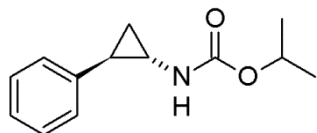
Obecná příprava (Metoda A)

K roztoku kyseliny (\pm)-**34–38** (2,5 mmol) v suchém alkoholu (dle typu karbamátu) (5 ml) byl přidán difenylfosforylazid (DPPA) (0,54 ml; 2,5 mmol) a TEA (0,42 ml; 3,0 mmol). Směs byla zahřívána k varu po dobu 8 h a rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 (20 ml) a extrahován nasyceným roztokem NaHCO_3 (2×25 ml) a solankou (2×25 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 , odpařena za vakua a surový produkt (\pm)-**39–43**, **55–59** a **62** byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1).

Obecná příprava (Metoda B)

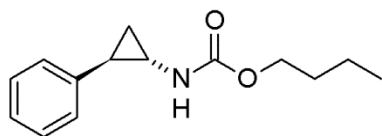
K roztoku kyseliny **34** (2,5 mmol) v suchém toluenu (pro (\pm)-**44–49** a **60**) nebo dioxanu (pro **50–54** a **61**) (5 ml) byl přidán odpovídající alkohol (3,0 mmol), DPPA (0,54 ml; 2,5 mmol) a TEA (0,42 ml; 3,0 mmol). Směs byla zahřívána k varu 24 h a rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 (20 ml) a extrahován nasyceným roztokem NaHCO_3 (2×25 ml) a solankou (2×25 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 , odpařena za vakua a surový produkt **44–54**, **60** a **61** byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1).

(\pm)-*trans*-*O*-Isopropyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((\pm)-**39**)



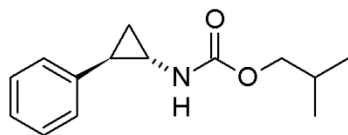
(+/-)-**39**

Metoda A: Výtěžek: 63 %; b.t.: 29–32 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,12 (m, 5H); 5,12 (bs, 1H); 4,87 (m, 1H); 2,65 (s, 1H); 1,98 (ddd, $^3J = 9,4; 6,5; 3,1$ Hz, 1H); 1,17 (d, $^3J = 8,8$ Hz, 6H); 1,09 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 156,6; 140,4; 128,1; 126,3; 125,8; 68,0; 32,4; 24,8; 22,0; 21,9; 15,8. Elementární analýza pro $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ (219,28) vypočteno: C 71,21; H 7,81; N 6,39; nalezeno: C 71,23; H 7,95; N 6,36. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{Na}$: 242,1152 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 242,1154.

(±)-*trans*-*O*-Butyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-40)**(+/-)-40**

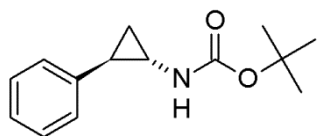
Metoda A: Výtěžek: 71 %; b.t.: 37–39 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,21 (m, 5H); 5,03 (bs, 1H); 4,08 (t, ³J = 6,3 Hz, 2H); 2,74 (s, 1H); 2,07 (ddd, ³J = 9,9; 6,6; 3,4 Hz, 1H); 1,60 (m, 2H); 1,36 (dq, ³J = 14,6; 7,4

Hz, 2H); 1,20 (m, 2H); 0,91 (t, ³J = 7,6 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 157,1; 140,4; 128,1; 126,4; 125,9; 64,7; 32,4; 30,9; 24,9; 18,9; 16,0; 13,6. Elementární analýza pro C₁₄H₁₉NO₂ (233,31) vypočteno: C 72,07; H 8,21; N 6,00; nalezeno: C 72,32; H 8,39; N 5,91. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₄H₁₉NO₂Na: 256,1308 ([M+Na]⁺); nalezeno: 256,1309.

(±)-*trans*-*O*-Isobutyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-41)**(+/-)-41**

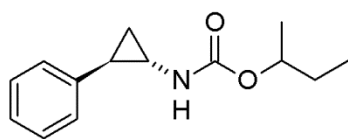
Metoda A: Výtěžek: 67 %; b.t.: 39–42 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,21 (m, 5H); 5,05 (bs, 1H); 3,87 (d, ³J = 3,2 Hz, 2H); 2,76 (m, 1H); 2,07 (ddd, ³J = 11,9; 6,0; 2,8 Hz, 1H); 1,91 (dt, ³J = 13,3; 6,7 Hz, 1H); 1,19 (m, 2H);

0,93 (d, ³J = 6,8 Hz, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 157,2; 140,4; 128,2; 126,3; 125,9; 71,0; 32,4; 29,5; 27,8; 24,9; 18,9; 16,0. Elementární analýza pro C₁₄H₁₉NO₂ (233,31) vypočteno: C 72,07; H 8,21; N 6,00; nalezeno: C 71,91; H 8,31; N 5,92. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₄H₁₉NO₂Na: 256,1308 ([M+Na]⁺); nalezeno: 256,1309.

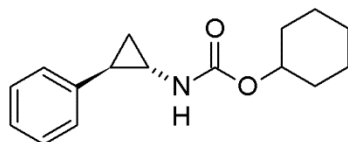
(±)-*trans*-*O*-*tert*-Butyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-42)^[293]**(+/-)-42**

Metoda A: Výtěžek: 64 %; b.t.: 78–80 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,25 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 4,91 (bs, 1H); 2,72 (m, 1H); 2,03 (m, 1H); 1,45 (s, 9H); 1,15 (m, 2H). ¹³C

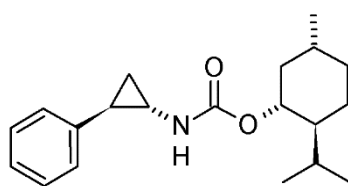
NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,3; 140,8; 128,3; 126,5; 126,0; 79,6; 32,5; 28,4; 25,0; 16,4. Elementární analýza pro C₁₄H₁₉NO₂ (233,31) vypočteno: C 72,07; H 8,21; N 6,00; nalezeno: C 72,20; H 8,34; N 5,98. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₄H₁₉NO₂Na: 256,1308 ([M+Na]⁺); nalezeno: 256,1310.

(±)-*trans*-*O*-*sec*-Butyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-43)**(+/-)-43**

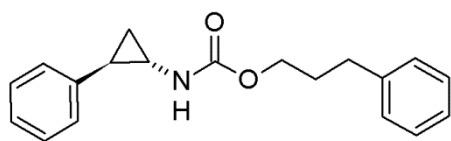
Metoda A: Výtěžek: 40 %; b.t.: 28–30 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 5,09 (bs, 1H); 4,77 (s, 1H); 2,73 (m, 1H); 2,06 (m, 1H); 1,55 (m, 2H); 1,19 (m, 3H); 1,19 (m, 2H); 0,89 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 157,0; 140,6; 128,3; 126,6; 126,1; 72,8; 32,6; 29,1; 25,0; 19,8; 16,2; 16,2; 9,7. Elementární analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ (233,31) vypočteno: C 72,07; 8,21; N 6,00; nalezeno: C 72,31; H 8,49; N 5,99. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{Na}$: 256,1308 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 256,1310.

(±)-*trans*-*O*-Cyklohexyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-44)**(+/-)-44**

Metoda B: Výtěžek: 55 %; b.t.: 87–89 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,20 (m, 5H); 5,10 (bs, 1H); 4,67 (s, 1H); 2,72 (m, 1H); 2,05 (m, 1H); 1,87 (m, 2H); 1,69 (m, 2H); 1,50 (m, 1H); 1,33 (m, 4H); 1,19 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156,5; 140,4; 128,1; 126,4; 125,8; 73,0; 32,4; 31,8; 25,2; 24,8; 23,7; 15,9. Elementární analýza pro $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (259,34) vypočteno: C 74,10; H 8,16; N 5,40; nalezeno: C 74,01; H 8,25; N 5,32. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2\text{Na}$: 282,1464 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 282,1466.

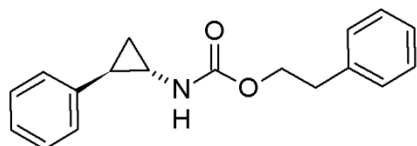
***trans*-*O*-Menthyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (45)****45**

Metoda B: Výtěžek: 82 %; b.t.: 113–115 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,21 (m, 5H); 4,93 (bs, 1H); 4,57 (m, 1H); 2,74 (d, $^3J = 2,4$ Hz, 1H); 2,07 (ddd, $^3J = 9,2$; 6,2; 3,0 Hz, 2H); 1,92 (dtd, $^3J = 13,9$; 6,9; 2,6 Hz, 2H); 1,66 (m, 2H); 1,48 (m, 1H); 1,29 (m, 1H); 1,16 (m, 2H); 1,04 (m, 2H); 0,87 (m, 7 H); 0,77 (d, $^3J = 6,8$ Hz, 3H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 156,7; 140,4; 128,1; 126,4; 125,9; 125,8; 74,5; 47,1; 41,3; 34,1; 34,1; 32,5; 31,2; 26,1; 23,3; 21,9; 20,7; 20,6; 16,3. Elementární analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ (315,45) vypočteno: C 76,15; H 9,27; N 4,44; nalezeno: C 76,21; H 9,27; N 4,43. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_2\text{Na}$: 338,2091 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 338,2092.

(±)-trans-O-(3-Fenylprop-1-yl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-46)**(+/-)-46**

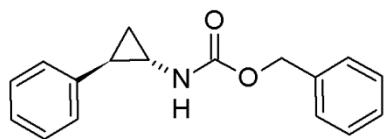
Metoda B: Výtěžek: 66 %; b.t.: 51–54 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,91 (m, 10H); 5,03 (bs, 1H); 4,11 (m, 2H); 2,75 (m, 1H); 2,67 (m, 2H); 2,08 (m, 1H); 1,94 (m, 2H); 1,20 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 157,0; 141,2; 140,3; 128,2; 128,2; 126,3; 125,9; 125,8; 64,3; 32,5; 32,0; 30,5; 24,9; 16,0. Elementární analýza pro C₁₉H₂₁NO₂ (295,38) vypočteno: C 77,26; H 7,17; N 4,74; nalezeno: C 77,51; H 7,29; N 4,84. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₉H₂₁NO₂Na: 318,1465 ([M+Na]⁺); nalezeno: 318,1466.

(±)-trans-O-(2-Fenylethyl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-47)**(+/-)-47**

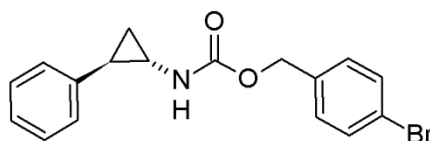
Metoda B: Výtěžek: 65 %; b.t.: 73–75 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,23 (m, 10H); 4,98 (bs, 1H); 4,30 (t, ³J = 6,9 Hz, 2H); 2,94 (t, ³J = 6,9 Hz, 2H); 2,73 (m, 1H); 2,05 (m, 1H); 1,18 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,9; 140,5; 138,0; 128,9; 128,5; 128,4; 126,5; 126,1; 65,3; 35,3; 32,6; 25,1; 16,2. Elementární analýza pro C₁₈H₁₉NO₂ (281,35) vypočteno: C 76,84; H 6,81; N 4,98; nalezeno: C 77,01; H 6,84; N 4,98. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₈H₁₉NO₂Na: 304,1308 ([M+Na]⁺); nalezeno: 304,1309.

(±)-trans-O-Benzyl-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-48)**(+/-)-48**

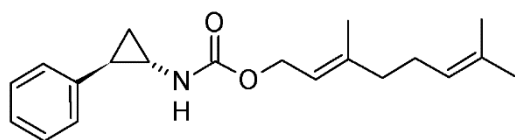
Metoda B: Výtěžek: 72 %; b.t.: 65–66 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,25 (m, 10H); 5,16 (bs, 1H); 5,11 (s, 2H); 2,75 (m, 1H); 2,50 (m, 1H); 1,19 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 157,0; 140,6;

136,6; 130,0; 128,7; 128,5; 128,3; 126,7; 126,3; 67,0; 32,8; 25,2; 16,3. Elementární analýza pro C₁₇H₁₇NO₂ (267,32) vypočteno: C 76,38; H 6,41; N 5,24; nalezeno: C 76,49; H 6,51; N 5,21. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₇H₁₇NO₂Cs: 400,0308 ([M+Cs]⁺); nalezeno: 400,0309.

(±)-trans-O-(4-Brombenzyl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-49)**(+/-)-49**

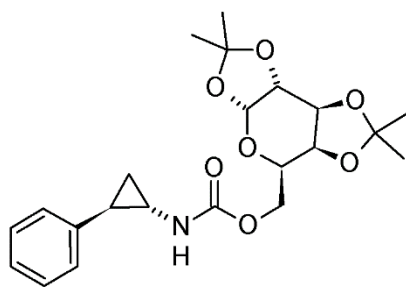
Metoda B: Výtěžek: 62 %; b.t.: 80–82 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,45 (m, 2H); 7,20 (m, 7H); 5,17 (bs, 1H); 5,05 (s, 2H); 2,75 (m, 1H); 2,06 (m, 1H); 1,19 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,8; 140,5; 135,6; 131,8; 130,0; 128,6; 126,7; 126,4; 122,3; 66,1; 32,8;

25,2; 16,4. Elementární analýza pro C₁₇H₁₆BrNO₂ (346,22) vypočteno: C 58,97; H 4,66; Br 23,08; N 4,05; nalezeno: C 59,12; H 4,64; Br 22,89; N 4,01. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₇H₁₆NO₂Cs: 477,9413 ([M+Cs]⁺); nalezeno: 477,9415.

(±)-trans-O-Geranyl-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((±)-50)**(+/-)-50**

Metoda B: Výtěžek: 70 %; bezbarvý olej; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,26 (m, 2H); 7,16 (m, 3H); 5,36 (bs, 1H); 5,08 (m, 2H); 4,62 (m, 2H); 2,75 (m, 1H); 2,08 (m,

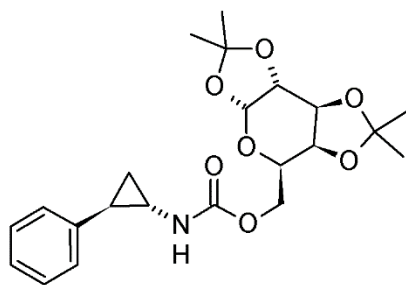
5H); 1,70 (d, ³*J* = 7,6 Hz, 6H); 1,60 (s, 3H); 1,18 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 157,5; 142,2; 132,1; 128,6; 126,9; 126,4; 124,1; 119,0; 62,1; 32,9; 26,6; 26,0; 25,4; 18,0; 16,8; 16,4. Elementární analýza pro C₂₀H₂₇NO₂ (313,43) vypočteno: C 76,64; H 8,68; N 4,47; nalezeno: C 76,52; H 8,63; N 4,52.

trans-O-(1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-α-D-galaktopyranos-6-yl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (51)**51**

Metoda B: Výtěžek: 65 %; amorfní látka; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,26 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 5,55 (m, 1H); 5,21 (bs, 1H); 4,61 (m, 1H); 4,33 (m, 2H); 4,24 (m, 1H); 4,13 (m, 1H); 4,04 (m, 1H); 2,74 (m, 1H); 2,06 (m, 1H); 1,52 (s, 3H); 1,45 (s, 3H); 1,32 (s, 6H); 1,19 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,6; 140,4; 128,4; 126,5; 126,1; 109,6;

108,8; 96,3; 71,1; 70,7; 70,4; 66,3; 64,0; 32,5; 26,1; 26,0; 25,0; 24,5; 16,2. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,71; H 7,20; N 3,18. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Na: 442,1836 ([M+Na]⁺); nalezeno: 442,1841.

(+)-(1*S*,2*R*)-*O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((1*S*,2*R*)-51)

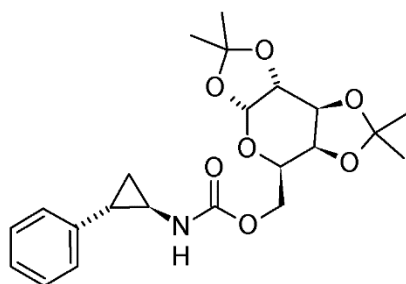


(1*S*,2*R*)-51

Metoda B: Výtěžek: 53 %; b.t.: 37–39 °C; $[\alpha]_D^{20} = +9,7$ (*c* 1,00; CH₂Cl₂); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,26 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 5,55 (bs, 1H); 5,18 (s, 1H); 4,61 (m, 1H); 4,33 (m, 2H); 4,23 (m, 1H); 4,15 (m, 1H); 4,05 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 2,06 (m, 1H); 1,53 (s, 3H); 1,45 (s, 3H); 1,31 (s, 6H); 1,20 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,6; 140,4; 128,4; 126,5; 126,1; 109,6; 108,8; 96,3; 71,1; 70,7; 70,4; 66,4; 64,0; 32,5; 26,1; 26,0; 25,0; 24,5; 16,0. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,70; H 6,94; N 3,17. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Na: 442,1836 ([M+Na]⁺); nalezeno: 442,1841.

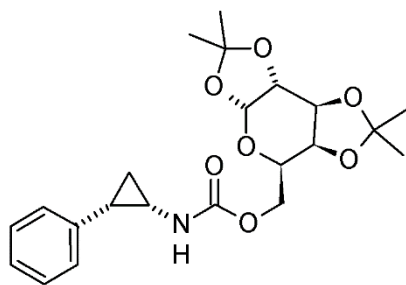
(-)-(1*R*,2*S*)-*O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((1*R*,2*S*)-51)



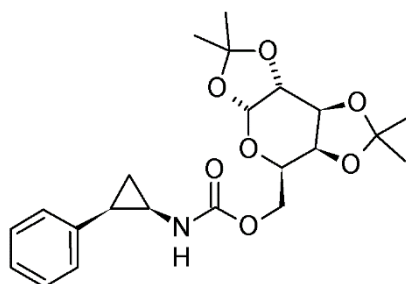
(1*R*,2*S*)-51

Metoda B: Výtěžek: 60 %; b.t.: 40–43 °C; $[\alpha]_D^{20} = -88,8$ (*c* 1,00; CH₂Cl₂); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,27 (m, 2H); 7,16 (m, 3H); 5,55 (m, 1H); 5,18 (bs, 1H); 4,61 (m, 1H); 4,33 (m, 2H); 4,23 (m, 1H); 4,14 (m, 1H); 4,03 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 2,08 (m, 1H); 1,52 (s, 3H); 1,43 (s, 3H); 1,31 (s, 6H); 1,19

(m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,9; 140,4; 128,3; 126,5; 126,1; 109,6; 108,8; 96,3; 71,1; 70,7; 70,4; 66,4; 64,1; 32,5; 26,0; 26,0; 25,0; 24,5; 16,2. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,80; H 6,99; N 3,29. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Na: 442,1836 ([M+Na]⁺); nalezeno: 442,1838.

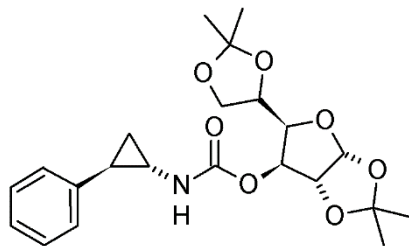
(-)-(1*S*,2*S*)-*O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)**-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((1*S*,2*S*)-51)****(1*S*,2*S*)-51**

Metoda B: Výtěžek: 48 %; b.t.: 40–42 °C; $[\alpha]_D^{20} = -12,8$ (*c* 1,00; CH₂Cl₂); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,29 (m, 2H); 7,21 (m, 3H); 5,50 (bs, 1H); 4,59 (m, 1H); 4,28 (m, 2H); 4,15 (m, 1H); 4,06 (m, 1H); 3,94 (m, 1H); 2,96 (m, 1H); 2,25 (m, 1H); 1,47 (m, 6H); 1,28 (s, 7H); 1,06 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,8; 136,0; 128,9; 128,4; 126,7; 109,6; 108,8; 96,3; 71,0; 70,7; 70,4; 66,3; 63,7; 29,2; 26,1; 26,0; 25,0; 24,5; 12,2. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,70; H 6,95; N 3,11. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Na: 442,1836 ([M+Na]⁺); nalezeno: 442,1839.

(-)-(1*R*,2*R*)-*O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)**-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát ((1*R*,2*R*)-51)****(1*R*,2*R*)-51**

Metoda B: Výtěžek: 60 %; b.t.: 39–40 °C; $[\alpha]_D^{20} = -58,2$ (*c* 1,00; CH₂Cl₂); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,30 (m, 2H); 7,22 (m, 3H); 5,52 (bs, 1H); 4,57 (m, 2H); 4,31 (m, 1H); 4,13 (m, 1H); 4,05 (m, 1H); 3,98 (m, 1H); 2,96 (m, 1H); 2,27 (m, 1H); 1,50 (m, 3H); 1,44 (m, 3H); 1,28 (s, 7H); 1,04 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,8; 136,1; 128,9; 128,4; 126,5; 109,5; 108,8; 96,3; 70,8; 70,6; 70,5; 65,7; 63,4; 29,2; 26,1; 25,9; 25,0; 24,5; 11,9. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,87; H 7,04; N 3,31. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Na: 442,1836 ([M+Na]⁺); nalezeno: 442,1842.

***trans*-O-(1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-glukofuranos-3-yl)-
N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (52)**

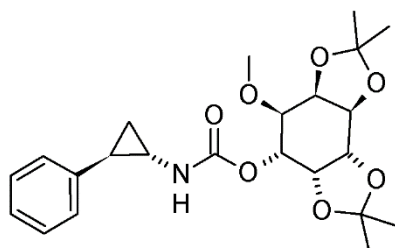


52

Metoda B: Výtěžek: 38 %; b.t.: 40–46 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,20 (m, 5H); 5,85 (m, 1H); 5,21 (bs, 1H); 4,59 (m, 1H); 4,21 (m, 2H); 4,04 (m, 2H); 2,77 (m, 1H); 2,11 (m, 1H); 1,52 (s, 3H); 1,42 (s, 3H); 1,33 (s, 3H); 1,30 (s, 3H) 1,22 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 155,5; 140,3; 128,6;

126,8; 126,4; 112,4; 109,5; 105,1; 83,6; 79,9; 77,4; 72,6; 67,2; 32,7; 27,0; 26,9; 26,4; 25,6; 25,2; 16,1. Elementární analýza pro $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_7$ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 63,27; H 6,93; N 3,34. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_7\text{Na}$: 442,1836 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 442,1835.

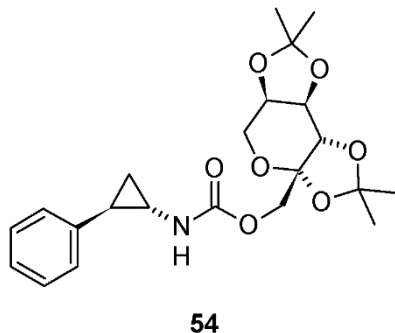
***trans*-O-(3-O-Methyl-1,2:5,6-bis-O-isopropyliden-D-*chiro*-inositol-4-yl)-
N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (53)**



53

Metoda B: Výtěžek: 43 %; amorfní látka; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,21 (m, 5H); 5,08 (bs, 1H); 4,90 (s, 1H); 4,32 (m, 4H); 3,52 (s, 3H); 3,25 (m, 1H); 2,81 (m, 1H); 2,12 (m, 1H); 1,52 (s, 6H); 1,35 (s, 6H); 1,22 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 155,9; 140,4; 128,2; 126,5; 126,0; 109,8; 109,4;

80,1; 78,6; 76,4; 75,9; 75,58; 73,0; 59,5; 32,6; 30,9; 27,8; 27,5; 25,4; 25,3; 25,0; 16,3. Elementární analýza pro $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_7$ (433,49) vypočteno: C 63,73; H 7,21; N 3,23; nalezeno: C 63,75; H 7,21; N 3,25. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_7\text{Na}$: 456,1993 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 456,1993.

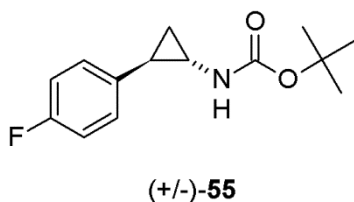
trans*-O-(2,3:4,5-Di-O-isopropyliden-β-D-fruktopyranos-1-yl)*-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (54)**

Metoda B: Výtěžek: 55 %; b.t.: 75–77 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,26 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 5,12 (bs, 1H); 4,41 (m, 1H); 4,29 (m, 1H); 4,23 (m, 1H); 4,11 (m, 1H); 3,89 (m, 1H); 3,76 (m, 1H); 2,77 (m, 1H); 2,08 (m, 1H); 1,54 (s, 3H); 1,49 (s, 3H); 1,38 (s, 3H); 1,34 (s, 3H) 1,20 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,4; 140,6; 128,7; 126,8; 126,5;

109,4; 108,9; 102,0; 71,7; 70,4; 66,6; 61,6; 32,9; 26,7; 26,2; 25,5; 24,4; 16,5. Elementární analýza pro C₂₂H₂₉NO₇ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 63,20; H 6,90; N 3,27. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₂₂H₂₉NO₇Cs: 552,0993 ([M+Cs]⁺); nalezeno: 552,0992.

3.15 Příprava (±)-*trans*-O-*tert*-butyl-N-(2-(4-halogenfenyl)cyclopropyl)karbamátů (±)-55–58

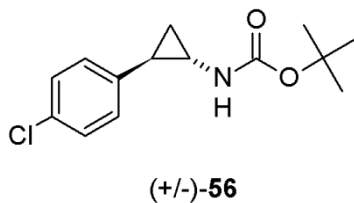
(±)-*trans*-O-*tert*-Butyl-N-(2-(4-fluorfenyl)cyclopropyl)karbamát ((±)-55)^[294]



Metoda A: Výtěžek: 40 %; b.t.: 104–105 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,12 (m, 2H); 6,95 (m, 2H); 4,84 (bs, 1H); 2,66 (m, 1H); 2,02 (m, 1H); 1,45 (s, 9H); 1,11 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 162,9; 160,5;

156,7; 136,6; 136,6; 128,5; 128,5; 115,5; 115,3; 80,0; 32,5; 28,7; 24,8; 16,2. Elementární analýza pro C₁₄H₁₈FNO₂ (251,30) vypočteno: C 66,91; H 7,22; N 5,57; nalezeno: C 67,19; H 7,18; N 5,42. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₄H₁₈FNO₂Cs: 384,0371 ([M+Cs]⁺); nalezeno: 384,0371.

(±)-*trans*-O-*tert*-Butyl-N-(2-(4-chlorfenyl)cyclopropyl)karbamát ((±)-56)^[295]

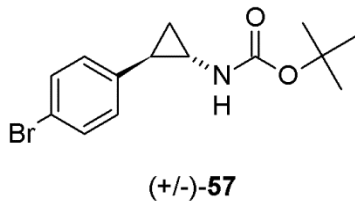


Metoda A: Výtěžek: 60 %; b.t.: 132–135 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,23 (m, 2H); 7,07 (m, 2H); 4,84 (bs, 1H); 2,67 (m, 1H); 2,02 (m, 1H); 1,45 (s, 9H); 1,13 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,4; 139,4;

131,8; 128,5; 128,1; 79,9; 32,6; 28,5; 24,8; 16,3. Elementární analýza pro C₁₄H₁₈ClNO₂ (267,75) vypočteno: C 62,80; H 6,78; Cl 13,24; N 5,23; nalezeno:

C 63,08; H 6,87; Cl 13,01; N 5,21. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{18}ClNO_2Cs$: 400,0075 ($[M+Cs]^+$); nalezeno: 400,0077.

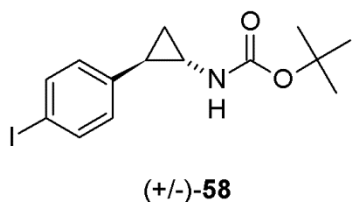
(±)-*trans*-*O*-*tert*-Butyl-*N*-(2-(4-bromfenyl)cyklopropyl)karbamát ((±)-57)^[294]



Metoda A: Výtěžek: 43 %; b.t.: 128–130 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,36 (m, 2H); 6,99 (m, 2H); 4,94 (bs, 1H); 2,65 (m, 1H); 1,99 (m, 1H); 1,44 (s, 9H); 1,12 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 156,6; 140,1;

131,6; 128,6; 119,9; 80,0; 32,7; 28,7; 24,9; 16,4. Elementární analýza pro $C_{14}H_{18}BrNO_2$ (312,20) vypočteno: C 53,86; H 5,81; Br 25,59; N 4,49; nalezeno: C 54,14; H 5,89; Br 25,30; N 4,32. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{18}BrNO_2Cs$: 443,9570 ($[M+Cs]^+$); nalezeno: 443,9571.

(±)-*trans*-*O*-*tert*-Butyl-*N*-(2-(4-jodfenyl)cyklopropyl)karbamát ((±)-58)^[296]

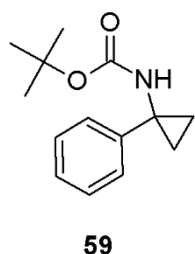


Metoda A: Výtěžek: 55 %; b.t.: 123–125 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,57 (m, 2H); 6,88 (m, 2H); 4,87 (bs, 1H); 2,67 (m, 1H); 1,98 (m, 1H); 1,45 (s, 9H); 1,14 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 156,6; 140,8;

137,6; 129,0; 91,2; 80,1; 32,8; 28,7; 25,1; 16,5. Elementární analýza pro $C_{14}H_{18}INO_2$ (359,20) vypočteno: C 46,81; H 5,05; N 3,90; nalezeno: C 46,89; H 5,10; N 3,88. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{18}INO_2Cs$: 491,9431 ($[M+Cs]^+$); nalezeno: 491,9433.

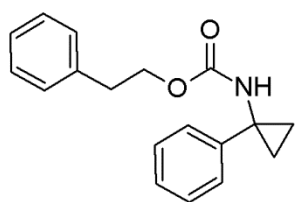
3.16 Příprava *O*-alkyl-*N*-(1-fenylcykloalkyl)karbamátů 59–63

***O*-*tert*-Butyl-*N*-(1-fenylcyklopropyl)karbamát (59)^[297]**



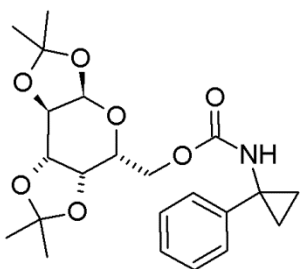
Látka byla připravena **metodou A** z komerčně dostupné 1-fenylcyklopropankarboxylové kyseliny. Výtěžek: 75 %; b.t.: 70–71 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,22 (m, 5H); 5,38 (bs, 1H); 1,44 (s, 9H); 1,23 (m, 4H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 156,9; 155,8; 143,9; 143,6; 128,6; 128,4; 126,3; 125,6; 125,3; 80,2; 79,7; 36,1; 35,3;

28,7; 18,8; 18,6. Elementární analýza pro $C_{14}H_{19}NO_2$ (233,31) vypočteno: C 72,07; H 8,21; N 6,00; nalezeno: C 72,19; H 8,29; N 6,01. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{14}H_{19}NO_2Cs$: 366,0465 ($[M+Cs]^+$); nalezeno: 366,0466.

***O*-(2-Fenylethyl)-*N*-(1-fenylcyklopropyl)karbamát (60)**

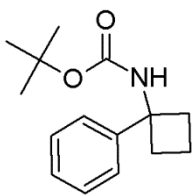
60

Látka byla připravena **metodou B** z komerčně dostupné 1-fenylcyklopropankarboxylové kyseliny. Výtěžek: 69 %; b.t.: 92–94 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,20 (m, 10H); 5,48 (bs, 1H); 4,27 (t, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 2,89 (t, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 1,21 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, 290 K, DMSO): δ 157,5; 157,0; 145,1; 144,8; 139,3; 139,2; 129,9; 129,3; 129,0; 127,3; 127,1; 126,5; 126,5; 125,6; 125,5; 65,7; 65,1; 36,0; 35,4; 19,5; 19,2. $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, 347 K, DMSO): δ 156,8; 144,6; 139,0; 129,5; 128,9; 128,6; 126,9; 126,2; 125,5; 64,8; 35,7; 35,3; 18,6. Elementární analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2$ (281,35) vypočteno: C 76,84; H 6,81; N 4,98; nalezeno: C 76,90; H 6,89; N 4,88. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{Cs}$: 414,0465 ($[\text{M}+\text{Cs}]^+$); nalezeno: 414,0466.

***O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(1-fenylcyklopropyl)karbamát (61)**

61

Látka byla připravena **metodou B** z komerčně dostupné 1-fenylcyklopropankarboxylové kyseliny. Výtěžek: 86 %; b.t.: 128–129 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,24 (m, 5H); 5,69 (bs, 1H); 5,53 (m, 1H); 4,59 (m, 1H); 4,32 (m, 2H); 4,21 (m, 1H); 4,05 (m, 2H); 1,46 (s, 3H); 1,43 (s, 3H); 1,33 (s, 6H); 1,25 (m, 4H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 155,8; 142,6; 128,2; 126,2; 125,3; 109,5; 108,6; 96,2; 71,0; 70,6; 70,3; 66,3; 63,9; 35,2; 25,9; 25,8; 24,7; 24,4; 17,9. Elementární analýza pro $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_7$ (419,47) vypočteno: C 62,99; H 6,97; N 3,34; nalezeno: C 62,96; H 6,91; N 3,30. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_7\text{Cs}$: 552,0993 ($[\text{M}+\text{Cs}]^+$); nalezeno: 552,0994.

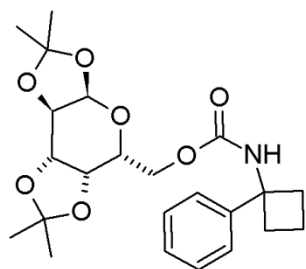
***O*-*tert*-Butyl-*N*-(1-fenylcyklobutyl)karbamát (62)**

62

Látka byla připravena **metodou A** z komerčně dostupné 1-fenylcyklobutan-1-ylkarboxylové kyseliny. Výtěžek: 45 %; b.t.: 55–57 °C; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7,42 (m, 2H); 7,33 (m, 2H); 7,23 (m, 1H); 5,10 (bs, 1H); 2,56 (m, 4H); 2,08 (m, 1H); 1,84 (m, 1H); 1,35 (s, 9H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3): δ 154,7; 146,4; 128,3; 126,7; 125,6; 79,7; 59,4; 34,3; 28,7; 15,4. Elementární analýza pro $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (247,33)

vypočteno: C 72,84; H 8,56; N 5,66; nalezeno: C 72,91; H 8,63; N 5,74.
 HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{15}H_{21}NO_2Cs$: 380,0621 ($[M+Cs]^+$);
 nalezeno: 380,0622.

***O*-(1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(1-fenylcyklo-
 butyl)karbamát (63)**



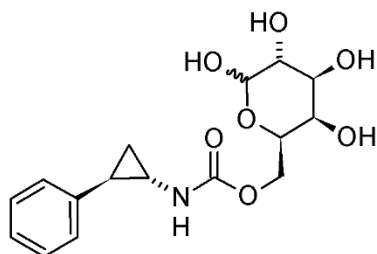
63

Látka byla připravena **metodou A** z komerčně dostupné 1-fenylcyklobutankarboxylové kyseliny. Výtěžek: 69 %; b.t.: 115–116 °C; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,42 (m, 2H); 7,33 (m, 2H); 7,23 (m, 1H); 5,53 (m, 1H); 5,37 (bs, 1H); 4,58 (m, 1H); 4,30 (m, 2H); 4,20 (m, 1H); 4,02 (m, 2H); 2,55 (m, 4H); 2,10 (m, 1H); 1,84 (m, 1H); 1,45 (s, 3H); 1,43 (m, 3H); 1,32 (s, 3H); 1,31 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 154,8; 145,7; 128,6; 127,1; 126,0; 109,9; 109,1; 96,7; 71,5; 71,0; 70,8; 66,9; 64,1; 59,6; 34,2; 26,3; 26,3; 25,3; 24,8; 15,6. Elementární analýza pro $C_{23}H_{31}NO_7$ (419,47) vypočteno: C 63,73; H 7,21; N 3,23; nalezeno: C 63,65; H 7,21; N 3,25. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{23}H_{31}NO_7Cs$: 566,1150 ($[M+Cs]^+$); nalezeno: 566,1150.

3.17 Příprava karbamátů 64–66

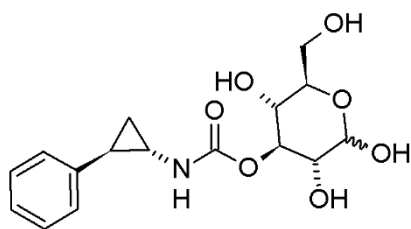
Roztok karbamátů **50–52** (1,0 mmol) ve směsi H_2O/TFA (v/v; 1/1; 5 ml) byl míchán po dobu 3 h za laboratorní teploty. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v MeOH (10 ml) a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua, tento proces byl opakován minimálně pětkrát.

***trans*-*O*-(α/β -D-Galaktopyranos-6-yl)-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (64)**



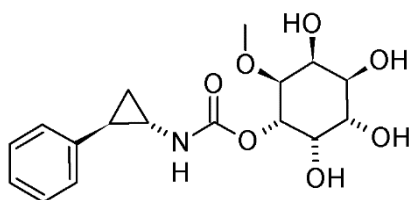
64

Výtěžek: 90 %; b.t.: 95–98 °C; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,13 (m, 2H); 7,02 (m, 3H); 5,06 (bs, 1H); 4,04 (m, 2H); 3,72 (m, 3H); 3,37 (m, 1H); 2,58 (m, 1H); 1,92 (m, 1H); 1,05 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 158,0; 140,9; 127,9; 125,9; 125,6; 97,3; 92,8; 73,3; 72,9; 72,2; 69,6; 68,8; 68,1; 63,8; 32,5; 24,1; 14,9. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $C_{16}H_{21}NO_7Na$: 362,1210 ($[M+Na]^+$); nalezeno: 362,1212.

trans-O-(α/β -D-Glukopyranos-3-yl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (65)**65**

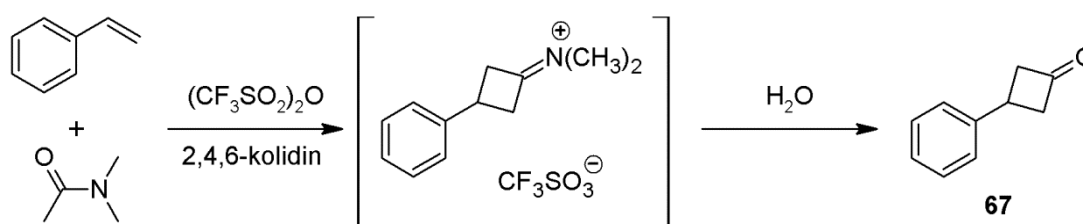
Výtěžek: 89 %; olej; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,25 (m, 2H); 7,15 (m, 3H); 5,16 (bs, 1H); 3,78 (m, 3H); 3,44 (m, 1H); 2,74 (m, 1H); 2,07 (m, 1H); 1,18 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 158,7; 141,1; 127,9; 125,8; 125,5; 96,8; 92,6; 76,5; 71,6; 71,0; 68,6; 61,2; 61,0; 32,5; 24,0; 14,9. HR-

MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_7\text{Na}$: 362,1210 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 362,1211.

trans-O-(2-O-Methyl-D-chiro-inositol-1-yl)-N-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (66)**66**

Výtěžek: 90 %; b.t.: 65–70 °C; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,23 (m, 2H); 7,13 (m, 3H); 3,92 (m, 2H); 3,82 (m, 2H); 3,51 (s, 3H); 3,34 (m, 2H); 2,72 (m, 1H); 2,04 (m, 1H); 1,17 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 159,8; 142,4; 129,3;

127,2; 126,9; 82,9; 77,0; 73,6; 73,4; 71,6; 71,1; 33,9; 25,6; 16,3. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{Na}$: 376,1367 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 376,1371.

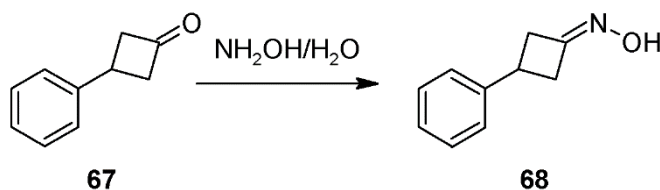
3.18 Příprava cis/trans-3-fenylcyklobutylaminu (69)**3-Fenylcyklobutanon (67)^[298]**

K roztoku *N,N*-dimethylacetamidu (3,3 g; 38 mmol) v suchém 1,2-dichlorethanu (100 ml), ochlazenému na 5 °C, byl přikapán anhydrid trifluormethylsulfonové kyseliny (7,6 ml; 45 mmol). Vzniklý roztok byl při této teplotě míchán po dobu 30 min a poté byl po kapkách přidán styren (17,2 ml; 150 mmol) rozpuštěný v suchém 1,2-dichlorethanu (50 ml). Reakční směs byla zahřívána k varu po dobu 18 h, následně byl 1,2-dichlorethan oddestilován za sníženého tlaku a zbytek byl suspendován ve vodě (50 ml) a CH_2Cl_2 (50 ml). Vzniklá heterogenní směs byla zahřívána dalších 18 h. Po ochlazení byla vodná fáze promyta

CH₂Cl₂ (3× 30 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií za použití *n*-pentanu a následně v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1). Látka **67** byla získána jako bezbarvý olej 2,52 g (46 %).

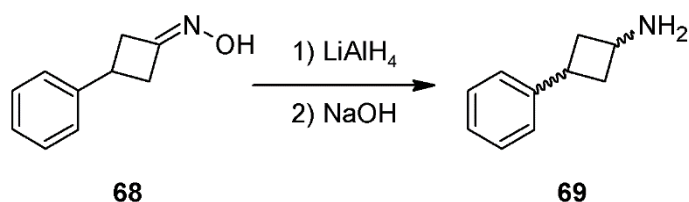
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,31 (m, 5H); 3,67 (m, 1H); 3,49 (m, 2H); 3,25 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 207,1; 143,9; 129,0; 126,9; 126,8; 55,0; 28,7.

3-Fenylcyklobutanonoxim (**68**)^[299]



K roztoku látky **67** (0,5 g; 3,42 mmol) v 96% ethanolu (17,5 ml) byl přidán hydroxylamin (50% vodný roztok) (2,08 ml; 33,9 mmol) a reakční směs byla míchána za laboratorní teploty po dobu 16 h. K roztoku byl přidán EtOAc (25 ml) a směs byla následně promyta vodou (2× 50 ml) a nasyceným roztokem NaCl (2× 50 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Látka **68** byla čištěna „flash“ chromatografií v *n*-hexanu a následně *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1). *N*-Oxim **67** byl získán jako bezbarvý olej 0,47 g (85 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 9,07 (bs, 1H); 7,26 (m, 5H); 3,61 (m, 1H); 3,46 (m, 1H); 3,35 (m, 1H); 3,04 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156,8; 144,2; 128,9; 126,9; 126,7; 39,6; 38,5; 33,1.

***cis/trans*-3-Fenylcyklobutylamin (69)^[300]**

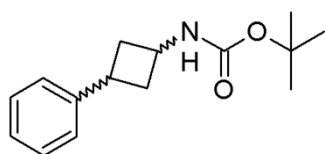
K roztoku **68** (0,33 g; 2 mmol) v suchém THF (10 ml) byl během 3 min po kapkách přidán 1M roztok LiAlH₄ v THF (4,41 ml; 4,41 mmol) a reakční směs byla zahřívána k varu po dobu 4 h. Po ochlazení byl přidán ke směsi 0,5M roztok NaOH (2 ml) a byla míchána dalších 30 min. Suspenze byla zfiltrována a pevný podíl byl promyt THF (3× 5 ml). Filtrát byl zahuštěn za sníženého tlaku a smíchán s 1M HCl (25 ml). Vzniklý roztok byl promyt etherem (3× 15 ml), vodná fáze byla neutralizována 1M roztokem NaHCO₃ a extrahována CH₂Cl₂ (3× 20 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny za sníženého tlaku. Výsledný amin **69** byl získán jako směs *cis/trans* izomerů (1:2) ve formě bezbarvého oleje 0,14 g (49 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,23 (m, 5H, (*trans*)); 7,23 (m, 5H, (*cis*)); 3,67 (m, 1H, (*cis*)); 3,59 (m, 1H, (*cis*)); 3,39 (m, 1H, (*trans*)); 3,05 (m, 1H, (*trans*)); 2,73 (m, 2H, (*trans*)); 2,46 (m, 2H, (*cis*)); 2,17 (m, 2H, (*cis*)); 1,78 (m, 2H, (*trans*)); 1,68 (bs, 2H, (*trans*)); 1,68 (bs, 2H, (*cis*)).

3.19 Příprava *O-tert*-butyl-*N*-alkylkarbamátů odvozených od substituovaných aminů 70–72^[298]

K roztoku cyklopropylaminu, 3-fenylpropan-1-aminu nebo **69** (5 mmol) v suchém CH₂Cl₂ (15 ml) byl po kapkách přidán roztok di-*tert*-butyldikarbonátu (1,03 ml; 4,5 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml). Směs byla míchána po dobu 2 h při laboratorní teplotě, rozpouštědlo bylo následně odpařeno za sníženého tlaku a zbytek byl přečištěn „flash“ chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1).

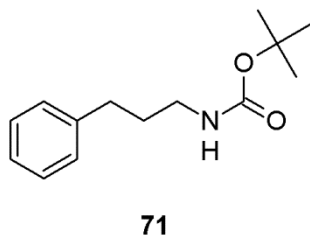
cis/trans-*O-tert*-Butyl-*N*-(3-fenylcyklobutyl)karbamát (70)



Výtěžek: 98 %; b.t.: 62–85 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,31 (m, 5H, (*trans*)); 7,31 (m, 5H, (*cis*)); 4,97 (bs, 1H, (*cis*)); 4,81 (bs, 1H, (*trans*)); 4,34 (m, 1H, (*cis*)); 4,19 (m, 1H, (*trans*)); 3,61 (m, 1H, (*cis*)); 3,20 (m, 1H, (*trans*)); 2,83 (m, 2H, (*trans*)); 2,59 (m, 2H, (*cis*)); 2,40 (m,

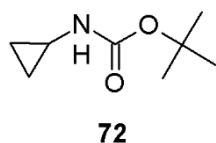
2H, (*cis*)); 2,00 (m, 2H, (*trans*)); 1,52 (s, 9H, (*trans*)); 1,51 (s, 9H, (*cis*)). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 155,2; 145,3; 144,8; 128,7; 128,6; 126,8; 126,7; 126,3; 126,2; 79,6; 44,4; 42,2; 39,1; 37,3; 34,5; 33,0; 28,7. Elementární analýza pro $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (247,33) vypočteno: C 72,84; H 8,56; N 5,66; nalezeno: C 72,67; H 8,69; N 5,44. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_2\text{Cs}$: 380,0621 ($[\text{M}+\text{Cs}]^+$); nalezeno: 380,0626.

***O*-*tert*-Butyl-*N*-(3-fenylpropyl)karbamát (71)^[301]**



Výtěžek: 70 %; bezbarvý olej; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,34 (m, 2H); 7,26 (m, 3H); 4,90 (bs, 1H); 3,22 (m, 2H); 2,71 (m, 2H); 1,88 (m, 2H); 1,54 (s, 9H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 156,2; 141,7; 128,5; 128,5; 126,0; 79,1; 40,3; 33,3; 31,9; 28,6. Elementární analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (235,32) vypočteno: C 71,46; H 8,99; N 5,95; nalezeno: C 71,38; H 8,98; N 5,91.

***O*-*tert*-Butyl-*N*-cyklopropylkarbamát (72)^[301]**

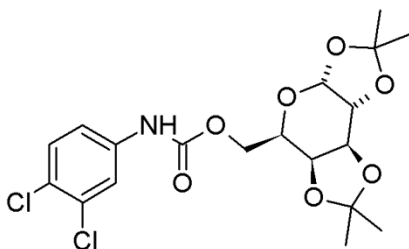


Výtěžek: 98 %; b.t.: 54–55 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 4,76 (bs, 1H); 2,50 (m, 1H); 1,42 (s, 9H); 0,66 (m, 2H); 0,46 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 157,0; 79,7; 31,5; 28,7; 23,2; 7,0. Elementární analýza pro $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$ (157,21) vypočteno: C 61,12; H 9,62; N 8,91; nalezeno: C 60,84; H 9,50; N 8,82. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{Cs}$: 290,0152 ($[\text{M}+\text{Cs}]^+$); nalezeno: 290,0153.

3.20 Příprava *O*-glykosyl-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamátů a *O*-glykosyl-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamátů 73–78

K roztoku substituovaného fenylisokyanátu (1,33 mmol) v suchém 1,4-dioxanu (5 ml) byl přidán odpovídající chráněný monosacharid (1,60 mmol) a TEA (1,60 mmol; 0,22 ml). Reakční směs byla zahřívána k varu po dobu 72 h, rozpouštědlo bylo oddestilováno za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1).

***O*-(1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (73)**

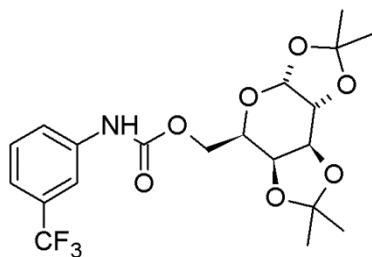


73

Výtěžek: 67 %; b.t.: 63–65 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,61 (s, 1H); 7,34 (d, $^3J = 8,8$ Hz, 1H); 7,19 (dd, $^3J = 8,8$; 2,8 Hz, 1H); 6,89 (bs, 1H); 5,57 (m, 1H); 4,64 (m, 1H); 4,37 (m, 2H); 4,28 (m, 2H); 4,08 (m, 1H); 1,52 (s, 3H); 1,47 (s, 3H); 1,36 (s, 3H); 1,34 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 153,1;

137,6; 133,1; 130,7; 126,8; 120,4; 118,0; 110,0; 109,1; 96,5; 71,3; 70,9; 70,5; 66,4; 64,9; 26,2; 26,2; 25,1; 24,7. Elementární analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7$ (448,28) vypočteno: C 50,90; H 5,17; Cl 15,85; N 3,12; nalezeno: C 50,78; H 5,16; Cl 16,08; N 2,99. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7\text{Na}$: 470,0744 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,0755.

***O*-(1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galaktopyranos-6-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (74)**

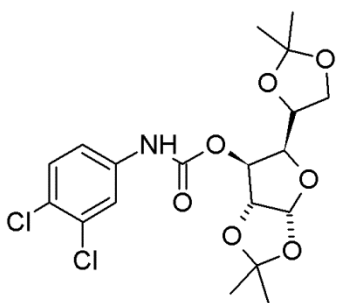


74

Výtěžek: 66 %; b.t.: 51–53 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,68 (bs, 1H); 7,52 (m, 1H); 7,35 (m, 1H); 7,25 (m, 2H); 5,53 (m, 1H); 4,60 (m, 1H); 4,37 (m, 1H); 4,33 (m, 1H); 4,25 (m, 2H); 4,08 (m, 1H); 1,48 (s, 3H); 1,42 (s, 3H); 1,31 (s, 3H); 1,29 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 153,4; 138,7; 132,0; 131,7; 131,4;

131,0; 129,7; 128,1; 125,4; 122,7; 121,8; 120,1; 120,0; 115,5; 109,9; 109,0; 96,5; 71,2; 70,9; 70,5; 66,4; 64,7; 26,1; 26,1; 25,0; 24,6. Elementární analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7$ (447,40) vypočteno: C 53,69; H 5,41; N 3,13; nalezeno: C 53,73; H 5,51; N 3,06. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7\text{Na}$: 470,1397 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,1403.

***O*-(1,2;5,6-Di-*O*-isopropyliden- α -D-glukofuranos-3-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (75)**

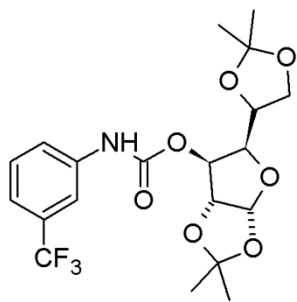


75

Výtěžek: 65 %; b.t.: 102–104 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,61 (s, 1H); 7,35 (d, $^3J = 8,8$ Hz, 1H); 7,18 (dd, $^3J = 8,8$; 2,8 Hz, 1H); 7,04 (bs, 1H); 5,88 (m, 1H); 5,24 (m, 1H); 4,63 (m, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,21 (m, 1H); 4,05 (m, 2H); 1,53 (s, 3H); 1,43 (s, 3H); 1,32 (s, 3H); 1,31 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 151,8; 137,2; 133,1; 130,7; 127,1; 120,3; 117,9; 112,7; 110,0; 105,1; 83,5; 79,8; 77,6;

72,5; 67,6; 27,1; 26,9; 26,3; 25,4. Elementární analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7$ (448,28) vypočteno: C 50,90; H 5,17; Cl 15,85; N 3,12; nalezeno: C 50,63; H 5,05; Cl 16,11; N 3,14. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7\text{Na}$: 470,0744 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,0750.

***O*-(1,2;5,6-Di-*O*-isopropyliden- α -D-glukofuranos-3-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (76)**

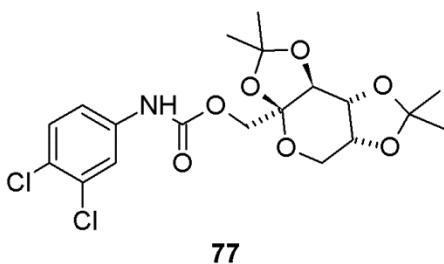


76

Výtěžek: 44 %; b.t.: 51–53 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,69 (bs, 1H); 7,54 (m, 1H); 7,36 (m, 3H); 5,90 (m, 1H); 5,29 (m, 1H); 4,66 (m, 1H); 4,35 (m, 1H); 4,25 (m, 1H); 4,11 (m, 2H); 1,55 (s, 3H); 1,45 (s, 3H); 1,34 (s, 3H); 1,32 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 151,9; 138,3; 132,2; 131,8; 131,5; 131,2; 129,8; 128,0; 125,3; 122,6; 121,6; 120,5; 120,5; 115,3; 112,7; 110,0; 105,2; 83,6; 79,9; 77,4; 72,5; 67,6; 27,1;

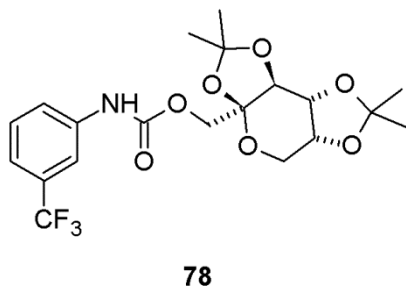
26,9; 26,3; 25,4. Elementární analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7$ (447,40) vypočteno: C 53,69; H 5,41; N 3,13; nalezeno: C 53,80; H 5,41; N 3,06. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7\text{Na}$: 470,1397 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,1404.

***O*-(2,3;4,5-Di-*O*-isopropyliden- β -D-fruktopyranos-1-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (77)**



Výtěžek: 57 %; b.t.: 163–165 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,60 (s, 1H); 7,32 (d, $^3J = 8,8$ Hz, 1H); 7,18 (dd, $^3J = 8,8$; 2,8 Hz, 1H); 6,83 (bs, 1H); 4,59 (m, 1H); 4,48 (m, 1H); 4,30 (m, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,17 (m, 1H); 3,88 (m, 1H); 3,77 (m, 1H); 1,53 (s, 3H); 1,48 (s, 3H); 1,37 (s, 3H); 1,33 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 152,7; 137,3; 133,1; 130,7; 127,0; 120,5; 118,1; 109,3; 109,0; 101,6; 71,1; 70,8; 70,2; 67,1; 61,5; 26,5; 26,1; 25,3; 24,2. Elementární analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7$ (448,28) vypočteno: C 50,90; H 5,17; Cl 15,85; N 3,12; nalezeno: C 51,24; H 5,22; Cl 15,50; N 3,01. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_7\text{Na}$: 470,0744 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,0751.

***O*-(2,3;4,5-Di-*O*-isopropyliden- β -D-fruktopyranos-1-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (78)**

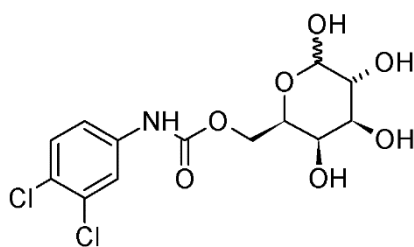


Výtěžek: 31 %; b.t.: 47–49 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,73 (bs, 1H); 7,58 (m, 1H); 7,41 (m, 1H); 7,30 (m, 2H); 4,62 (m, 1H); 4,54 (m, 1H); 4,33 (m, 1H); 4,26 (m, 1H); 4,20 (m, 1H); 3,92 (m, 1H); 3,79 (m, 1H); 1,55 (s, 3H); 1,50 (s, 3H); 1,40 (s, 3H); 1,35 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 152,9; 138,6; 132,0; 131,7; 131,4; 131,1; 129,7; 128,0; 125,3; 122,6; 121,9; 120,2; 119,9; 115,6; 109,3; 108,9; 101,7; 71,0; 70,8; 70,1; 66,7; 60,6; 26,5; 26,0; 25,2; 24,1. Elementární analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7$ (447,40) vypočteno: C 53,69; H 5,41; N 3,13; nalezeno: C 54,04; H 5,46; N 2,98. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_7\text{Na}$: 470,1397 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 470,1404.

3.21 Příprava karbamátů 79–84

Roztok karbamátů **73–78** (0,5 mmol) ve směsi H₂O/TFA (v/v; 1/1; 5 ml) byl míchán po dobu 24 h za laboratorní teploty. Rozpouštědla byla odpařena za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v MeOH (10 ml). Rozpouštědlo bylo poté odpařeno za vakua. Tento proces byl opakován minimálně pětkrát. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií v mobilní fázi CH₂Cl₂/MeOH (v/v; 1/1).

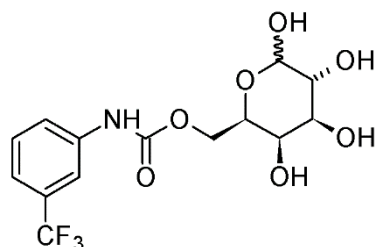
O-(α/β -D-Galaktopyranos-6-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (**79**)

**79**

Výtěžek: 83 %; b.t.: 117–120 °C (rozklad); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,68 (m, 2H); 7,33 (m, 2H); 7,26 (m, 2H); 5,13 (m, 1H); 4,43 (m, 1H); 4,26 (m, 5H); 3,90 (m, 1H); 3,83 (m, 1H); 3,76 (m, 2H); 3,47 (m, 2H); 3,27 (m, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 155,3; 155,3; 140,3; 133,3; 131,5; 126,6;

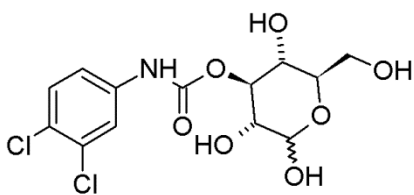
120,9; 119,2; 98,6; 94,2; 74,7; 74,1; 73,6; 71,0; 70,3; 70,2; 69,7; 69,4; 65,6; 65,4. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₃H₁₅Cl₂NO₇Na: 390,0118 ([M+Na]⁺); nalezeno: 390,0125.

O-(α/β -D-Galaktopyranos-6-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (**80**)

**80**

Výtěžek: 83 %; b.t.: 109–112 °C (rozklad); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,81 (s, 2H); 7,57 (d, ³*J* = 8,0 Hz, 2H); 7,40 (t, ³*J* = 8,0 Hz, 2H); 7,24 (d, ³*J* = 8,0 Hz, 2H); 5,16 (m, 1H); 4,46 (m, 1H); 4,27 (m, 5H); 3,93 (m, 1H); 3,87 (m, 1H); 3,79 (m, 2H); 3,49 (m, 2H).

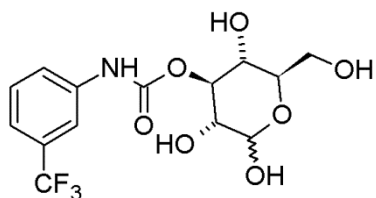
¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ 155,5; 155,5; 141,0; 132,6; 132,3; 131,9; 131,6; 130,6; 129,5; 126,8; 124,1; 122,8; 121,4; 120,2; 115,9; 98,6; 94,1; 74,7; 74,1; 73,6; 71,0; 70,9; 70,3; 70,2; 69,4; 65,5; 65,4. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* vypočteno pro C₁₄H₁₆F₃NO₇Na: 390,0771 ([M+Na]⁺); nalezeno: 390,0779.

***O*-(α/β -D-Glukopyranos-3-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (81)**

81

Výtěžek: 97 %; b.t.: 167–170 °C (rozklad); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,72 (m, 2H); 7,31 (m, 4H); 5,11 (m, 2H); 4,56 (m, 1H); 3,86–3,63 (m, 5H); 3,50 (m, 3H); 3,36 (m, 1H); 3,27 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 155,8; 155,5; 140,5; 133,3; 131,4;

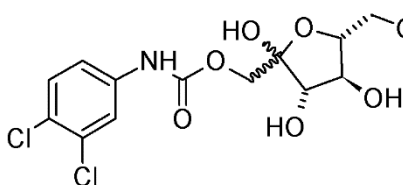
126,4; 121,0; 119,3; 98,1; 93,9; 80,0; 78,0; 77,8; 74,7; 72,9; 72,2; 69,9; 69,8; 62,5; 62,3. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_7\text{Na}$: 390,0118 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 390,0126.

***O*-(α/β -D-Glukopyranos-3-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (82)**

82

Výtěžek: 67 %; b.t.: 125–128 °C (rozklad); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,84 (s, 2H); 7,60 (d, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 7,39 (t, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 7,23 (d, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 5,16 (m, 1H); 5,12 (m, 1H); 4,60 (m, 1H); 3,90–3,67 (m, 5H); 3,56 (m, 3H); 3,35 (m, 3H). $^{13}\text{C NMR}$

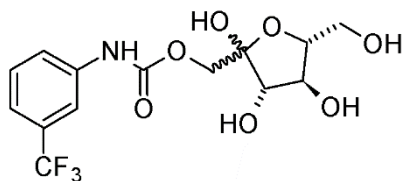
(100 MHz, CD_3OD): δ 156,0; 155,8; 141,1; 132,5; 132,2; 131,9; 131,5; 130,5; 129,5; 126,8; 124,1; 122,9; 121,4; 120,1 116,0; 98,1; 93,9; 80,0; 77,9; 77,7; 74,6; 72,9; 72,1; 69,9; 69,7; 62,4; 62,2. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_7\text{Na}$: 390,0771 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 390,0779.

***O*-(α/β -D-Fruktofuranos-1-yl)-*N*-(3,4-dichlorfenyl)karbamát (83)**

83

Výtěžek: 89 %; b.t.: 171–173 °C (rozklad); $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,74 (m, 2H); 7,38 (m, 2H); 7,31 (m, 2H); 4,27–4,02 (m, 7H); 3,88 (m, 1H); 3,83 (m, 1H); 3,75 (m, 3H); 3,65 (m, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): δ 155,2;

155,2; 140,3; 133,3; 131,5; 126,6; 120,9; 119,2; 101,6; 98,3; 83,3; 78,3; 76,4; 71,4; 71,0; 69,5; 67,1; 66,1; 64,7; 64,1. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_7\text{Na}$: 390,0118 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 390,0124.

***O*-(α/β -D-Fruktofuranos-1-yl)-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamát (84)**

84

Výtěžek: 67 %; b.t.: 151–153 °C (rozklad); ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,86 (s, 2H); 7,63 (m, 2H); 7,46 (t, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 7,29 (d, $^3J = 8,0$ Hz, 2H); 4,28–4,02 (m, 7H); 3,88 (m, 1H); 3,83 (m, 1H); 3,75 (m, 3H); 3,64 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz,

CD_3OD): δ 155,4; 155,2; 141,2; 132,7; 132,3; 132,0; 131,7; 130,7; 129,6; 126,9; 124,2; 122,8; 121,6; 120,2; 115,9; 101,6; 98,3; 83,4; 78,4; 76,4; 71,4; 71,0; 69,6; 67,1; 66,1; 64,7; 64,2. HR-MALDI-MS (DHB): m/z vypočteno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_7\text{Na}$: 390,0771 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$); nalezeno: 390,0780.

3.22 Stanovení parametrů IC_{50} a $\log P_{ow}$ inhibitorů ChEs**3.22.1 Stanovení inhibiční aktivity studovaných karbamátů^[302]**

Všechny testované látky byly rozpuštěny v DMSO ($c = 0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a následně zředěny demineralizovanou vodou na koncentraci ($c = 0,001 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$). Schopnost testovaných látek inhibovat aktivitu AChE (z elektrického úhoře) a BChE (z koňského séra) byla stanovena použitím modifikované Ellmanovy metody při 25 °C v přítomnosti fosfátového pufru (PBS; $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$; pH 7,4) ve skleněné kyvetě o délce 1 cm. Enzymatická aktivita v reakční směsi (2 ml) byla $0,2 \text{ U}\cdot\text{ml}^{-1}$, koncentrace ATCh byla $40 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a koncentrace DTNB byla $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro všechny reakce. Hodnoty IC_{50} byly získány ze závislosti poměru rychlostí neinhibované a inhibované reakce v_0/v_i na koncentraci testované látky (inhibitoru).

Nejprve byla stanovena rychlost neinhibované reakce v_0 . Do kyvety, která obsahovala PBS ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$; pH 7,4), DTNB a ATCh, byl přidán enzym, čímž byla zahájena enzymatická reakce, která byla studována spektrofotometricky. Ze závislosti absorbance (412 nm) na čase (reakce byla sledována 70 s) byla následně vypočtena hodnota v_0 ($v_0 = \Delta A/\Delta t$). Měření bylo opakováno minimálně 3× a z výsledných hodnot byla stanovena průměrná v_0 . Následně byly stanoveny hodnoty v_i (pro dané koncentrace inhibitoru). Do kyvety bylo předloženo DTNB, ATCh, stanovený objem inhibitoru tak, aby bylo dosaženo požadované koncentrace ve výsledné reakční směsi a směs byla doplněna příslušným množstvím PBS tak, aby po přidání enzymu do reakční směsi byl objem směsi 2 ml. Enzymatická reakce byla zahájena přidáním enzymu. V závislosti absorbance (412 nm) na čase (opět 70 s) byla vypočtena hodnota

v_i . Pro každý inhibitor bylo stanoveno 5 koncentrací, alespoň ve dvou opakováních. Nakonec byla vytvořena závislost v_0/v_i na koncentraci inhibitoru a hodnota IC_{50} byla vypočtena z rovnice regrese vzniklé křivky, kde $y = 2$ (což vyplývá z definice hodnoty IC_{50}).

3.22.2 Stanovení hodnoty $\log P_{ow}$ [303]

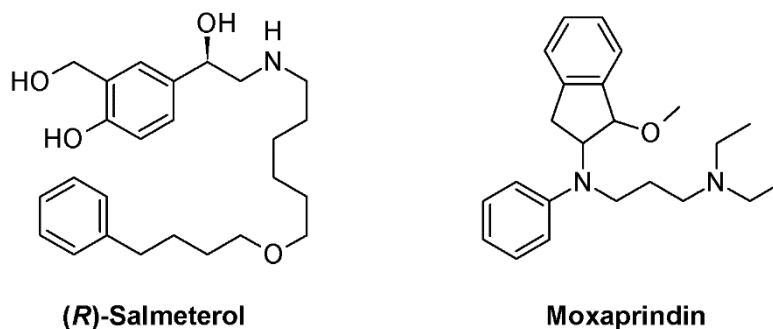
Pro stanovení $\log P_{ow}$ byla použita standardní metoda protřepávání. Do testovací zkumavky byl předložen *n*-oktanol (1,5 ml) a *n*-oktanolový roztok testovaných sloučenin (10 μ l; 0,01 mol·l⁻¹). Takto vzniklá směs byla intenzivně protřepávána 15 min. Do křemenné kyvety byl odpipetován 1 ml této směsi a byla změřena její absorbance při vlnové délce absorpčního maxima, která odpovídala 100 % daného inhibitoru v *n*-oktanolu.

Do další testovací zkumavky byl předložen *n*-oktanol (1,5 ml), voda (1,5 ml) a *n*-oktanolový roztok testovaných sloučenin (10 μ l; 0,01 mol·l⁻¹). Takto vzniklý roztok byl intenzivně protřepáván 15 min a centrifugován při 3000 ot./min po dobu 10 min. Do kyvety byl odpipetován 1 ml oktanolové vrstvy a byla změřena absorbance při vlnové délce absorpčního maxima pro daný inhibitor. Srovnávacím prostředím byl vždy *n*-oktanol. Takto byl určen procentuální obsah inhibitoru ve vodné vrstvě 100–(%)₁. Následně byly vypočteny $\log P_{ow}$ ($\log P_{ow} = \log(c_1/c_2)$) jednotlivých inhibitorů, kde c_1 a c_2 jsou molární koncentrace testovaných sloučenin ve směsi *n*-oktanol/voda. Pro každou sloučeninu byla provedena minimálně dvě měření.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Studium asymetrické inter- a intramolekulární Henryho reakce pro přípravu klíčových meziproduktů v syntéze biologicky aktivních látek

V první části své disertační práce jsem se zabývala studiem asymetrické inter- a intramolekulární Henryho reakce. Zaměřila jsem se především na vývoj nových enantioselektivních katalyzátorů asymetrické Henryho reakce na bázi měďnatých komplexů 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů. Dále pak na jejich aplikaci pro přípravu vhodně substituovaných β -nitroalkoholů, které by představovaly chirální neracemické intermediáty farmaceutických substancí. Konkrétně se jednalo o přípravu β -nitroalkoholu, ze kterého je možné provést syntézu léčiva (*R*)-Salmeterol^[304] (**Obr. 8**). V případě intramolekulární Henryho reakce jsem se zaměřila na substituované 2-nitroindan-1-oly, které mohou být dále redukcí převedeny na příslušné 2-aminoindan-1-oly. 2-Aminoindan-1-olový systém lze nalézt v mnoha biologicky aktivních látkách,^[305–307] např. v antiarytmiku Moxapridinu (**Obr. 8**).^[308]

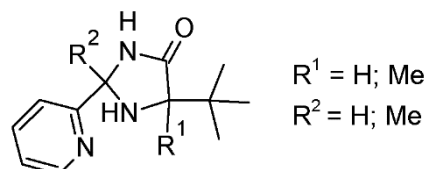


Obr. 8 Léčivé látky obsahující ve své molekule β -aminoalkoholové uskupení

4.2 Intermolekulární asymetrická Henryho reakce katalyzovaná měďnatými komplexy 5-*tert*-butyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů 8–10

V této práci jsem připravila novou sérii ligandů odvozených od substituovaných 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů 8–10. Jejich měďnaté komplexy jsem pak studovala jako enantioselektivní katalyzátory asymetrické Henryho reakce.^[309] V předchozích pracích bylo zjištěno, že enantiokatalytická aktivita tohoto typu katalyzátoru je výrazně ovlivněna substitucí na stereogenních centrech ligandu, přičemž velký význam má sterické působení alkyly v pozici 5-. Předchozí série

substituovaných 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onových derivátů obsahovaly v této pozici isopropylovou^[128] resp. benzylovou skupinu.^[310] Cílem mé práce bylo připravit a studovat enantiokatalytickou účinnost imidazolidin-4-onů obsahujících v pozici 5-*terc*-butylovou skupinu (**Obr. 9**). Díky její značné sterické objemnosti jsem předpokládala, že by mohlo dojít ke zvýšení enantioselektivity této třídy katalyzátorů, obdobně, jak bylo pozorováno v případě analogického 5-*terc*-butyl-(2-pyridin-2-yl)oxazolinu.^[311,312]

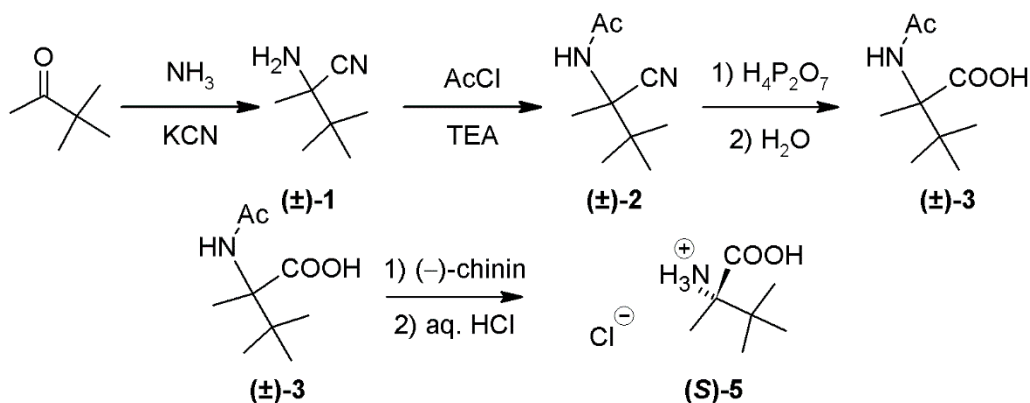


Obr. 9 Substituované imidazolidin-4-ony **8–10**

Vzhledem k tomu, že výchozí sloučeninou pro syntézu derivátů 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů jsou příslušné 2-aminoalkanamidy, musel být v této souvislosti rovněž vyvinut syntetický postup pro přípravu 2-amino-2,3,3-trimethylbutanamidu (**6**) (α -methyl-*terc*-leucinamidu) v opticky čisté formě. Tato problematika byla úspěšně řešena v rámci bakalářské práce z roku 2012 vypracované na Ústavu organické chemie a technologie, Univerzity Pardubice.^[276] Nově vyvinutý postup^[276] přípravy (*S*)- α -methyl-*terc*-leucinu (**5**) a jeho amidu **6** poskytuje tyto látky ve vysokém výtěžku a s vysokou enantiomerní čistotou, na rozdíl od několika málo předchozích postupů uvedených v literatuře.^[313–316]

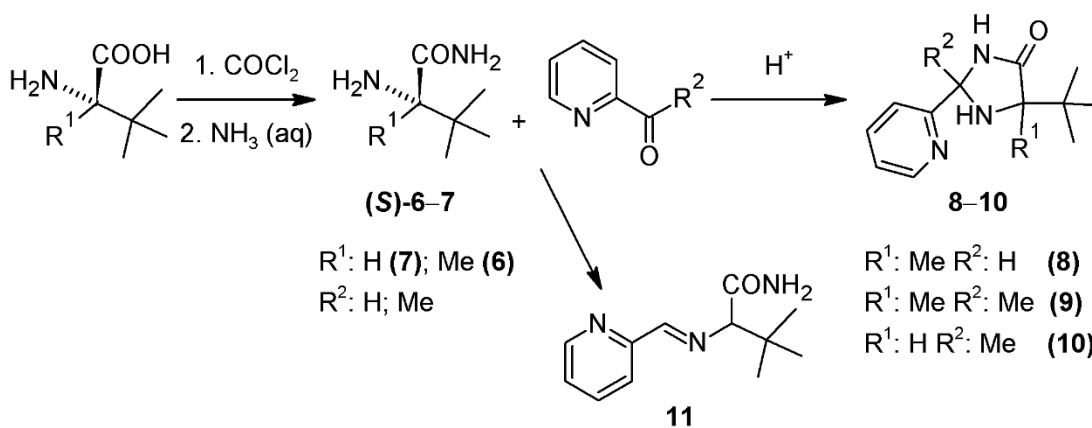
4.2.1 Příprava a charakterizace substituovaných 5-*terc*-butyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů (**8–10**)

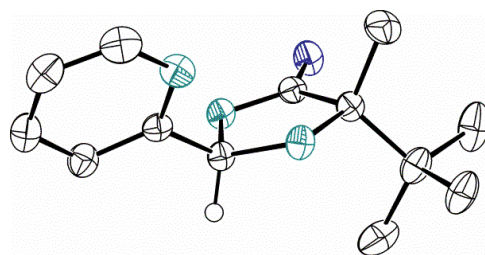
Příprava těchto ligandů vycházela buď z komerčně dostupného *L-terc*-leucinu nebo (*S*)- α -methyl-*terc*-leucinu (**5**), který byl připraven následujícím syntetickým postupem^[276] ve více než 99% enantiomerní čistotě (**Schéma 31**).

Schéma 31 Příprava (*S*)- α -methyl-*tert*-leucinu ((*S*)-5)

(*S*)- α -methyl-*tert*-leucinamid ((*S*)-6) a *L*-*tert*-leucinamid ((*S*)-7) byl připraven působením vodného roztoku amoniaku na NCA příslušných 2-aminokyselin (88–92 %). Oba NCA byly získány prakticky kvantitativně, a to působením fosgenu nebo trifosgenu na výchozí aminokyselinu.^[276]

Na tyto výsledky jsem navázala a deriváty imidazolidin-4-onu **8–10** jsem připravila, jako směs diastereoizomerů *cis/trans*-**8** (1/1), *cis/trans*-**9** (3/4) a *cis/trans*-**10** (2/1) v relativně dobrých výtěžcích: 94 % pro derivát **8**, 73 % pro derivát **9** a 46 % pro derivát **10**. Kondenzační reakce amidů (*S*)-**6** a (*S*)-**7** s pyridin-2-karbaldehydem nebo 2-acetylpyridinem katalyzovaná kys. octovou je uvedena ve **Schématu 32**.^[128,310] Jednotlivé diastereoizomery *cis* resp. *trans* jsem separovala sloupcovou chromatografií. Relativní konfiguraci jednotlivých diastereoizomerů těchto ligandů jsem stanovila pomocí ¹H NMR experimentů, a to 1D NOESY pulsní sekvence. V případě ligandu (**2R,5S**)-**8** jsem konfiguraci *trans* rovněž potvrdila rentgenostrukturní analýzou (**Obr. 10**).

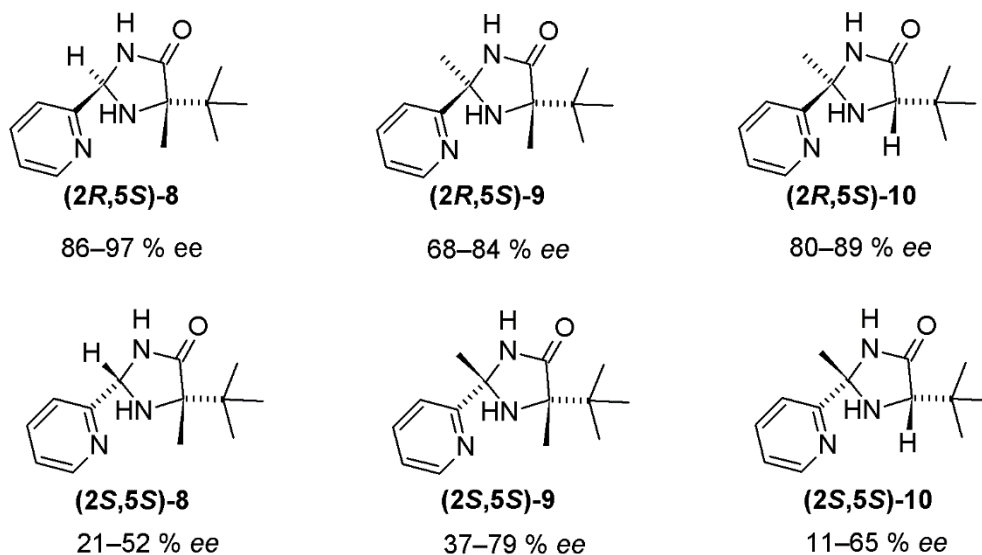
Schéma 32 Příprava derivátů imidazolidin-4-onu **8–10**



Obr. 10 ORTEP diagram ligandu (2R,5S)-8

4.2.2 Studium katalytických vlastností měďnatých komplexů substituovaných 5-*terc*-butyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů 8–10

Katalytickou aktivitu jednotlivých Cu(II)-komplexů, připravených *in situ* z ligandů 8–10 (Obr. 11), jsem porovnávala na asymetrické Henryho reakci čtyř různých aldehydů (benzaldehyd, 4-nitrobenzaldehyd, 2-methoxybenzaldehyd, pivalaldehyd) s nitromethanem (Tab. 1).



Obr. 11 Enantioselektivita měďnatých komplexů imidazolidin-4-onů 8–10

Výběr těchto aldehydů jsem provedla s ohledem k možnému srovnání s předchozími katalyzátory na bázi měďnatých komplexů 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů.^[128,310] Pro tento účel jsem zachovala také stejné reakční podmínky (množství katalyzátoru, rozpouštědlo, reakční čas a teplota).

Tab. 1 Asymetrická Henryho reakce vybraných aldehydů katalyzovaná měďnatými komplexy ligandů **8–10**

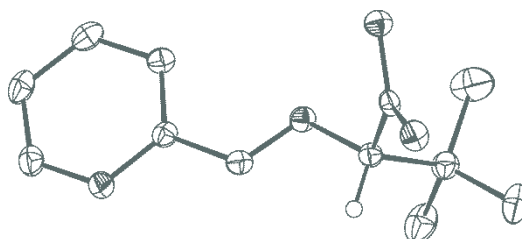
R	<i>t</i> -Bu		4-NO ₂ C ₆ H ₄		C ₆ H ₅		2-CH ₃ OC ₆ H ₄	
	výtěžek (%)	<i>ee</i> (%)	výtěžek (%)	<i>ee</i> (%)	výtěžek (%)	<i>ee</i> (%)	výtěžek (%)	<i>ee</i> (%)
(2<i>R</i>,5<i>S</i>)-8	48	97	93	86	81	93	88	92
(2<i>S</i>,5<i>S</i>)-8	15	-51	31	-21	44	-45	42	-52
(2<i>R</i>,5<i>S</i>)-9	38	84	75	62	80	78	96	68
(2<i>S</i>,5<i>S</i>)-9	–	–	57	37	65	79	45	74
(2<i>R</i>,5<i>S</i>)-10	33	89	99	80	87	88	94	89
(2<i>S</i>,5<i>S</i>)-10	14	65	52	11	47	65	35	37

Měďnaté komplexy ligandů s *trans* konfigurací **(2*R*,5*S*)-8–10** vykazovaly výrazně vyšší katalytickou aktivitu než měďnaté komplexy *cis*-forem **(2*S*,5*S*)-8–10**. To je pravděpodobně způsobeno sterickým efektem *terc*-butylové skupiny, která je v případě *cis*-formy v nevhodném postavení vůči chelatačnímu centru, což znesnadňuje koordinaci reaktantů k měďnatému iontu. Chemické výtěžky byly nejnižší v případě reakce nitromethanu s pivalaldehydem, u katalýzy měďnatým komplexem derivátu **(2*S*,5*S*)-9** (tři alkylové skupiny v pozicích 2- a 5-) nebyl izolován žádný produkt.

Enantioselektivita měďnatých komplexů ligandů **8–10** se lišila v závislosti na typu substituentů na stereogenních centrech. V předchozích studiích (u katalyzátoru s benzylovou a isopropylovou skupinou v pozici 5-) bylo zjištěno, že deriváty obsahující v pozici 5- jako druhý substituent methyl skupinu, vykazují vyšší enantioselektivitu než deriváty, které v této pozici mají vodíkový substituent.^[128,310] Naproti tomu, methylová skupina v poloze 2- u předchozích katalyzátorů měla nejednoznačný vliv na enantioselektivitu. V případě katalyzátorů s benzylovou substitucí přítomnost methylu v pozici 2- vedla ke zvýšení enantioselektivity,^[310] ale v případě katalyzátorů s isopropylovou substitucí k jejímu poklesu.^[128]

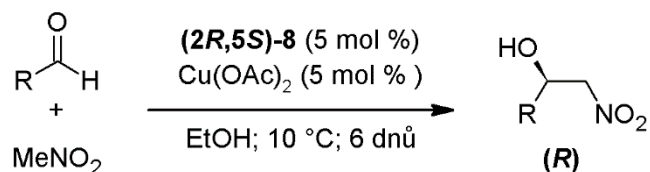
V případě katalyzátorů s *terc*-butylovou skupinou v pozici 5-, vykazoval 2,5-dimethyl derivát **9** pouze střední enantioselektivitu (*trans* **(2*R*,5*S*)-9**: 68–84 % *ee*; *cis* **(2*S*,5*S*)-9**: 37–79 % *ee*). Enantioselektivita *trans* a *cis* formy se příliš nelišila (podobně jako u předchozích katalyzátorů s benzylovou skupinou v pozici 5-) a oba

isomery poskytovaly stejný typ dominantního enantiomeru. Formální odstranění methylové skupiny z pozice 5- vedlo ke zvýšení enantioselektivity *trans* derivátu (**2R,5S**)-**10** (80–89 % *ee*), ale v případě *cis* derivátu (**2S,5S**)-**10** došlo k významnému snížení enantioselektivity (11–65 % *ee*). Zvýšení enantioselektivity jsem pozorovala v případě *trans* derivátu (**2R,5S**)-**8** (86–97 % *ee*) při formálním odstranění methylové skupiny v poloze 2-. V případě *cis* derivátu (**2S,5S**)-**8** však došlo k výraznému poklesu enantioselektivity (21–52 % *ee*), přičemž v produktu převládal opačný enantiomer. Z těchto výsledků je tedy patrné, že přítomnost/nepřítomnost methylové skupiny na stereogenních centrech v pozicích 2- a 5- má významný vliv na výslednou enantioselektivitu katalyzátorů, což je pravděpodobně způsobeno rozdílnou geometrií, a tedy i energií příslušných aktivovaných komplexů. Lze předpokládat, že derivát bez methylových skupin v polohách 2- a 5-, tj. měďnatý komplex (**2R,5S**)-2-*tert*-butyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onu by mohl vykazovat ještě vyšší enantioselektivitu než komplexy ligandů **8–10**. Pokusy o přípravu uvedeného ligandu kondenzací pyridin-2-karbaldehydu a s odpovídajícím *L-tert*-leucinamidem (**7**) katalyzovanou AcOH, *p*-TsOH nebo Cu(OTf)₂ však vždy vedly pouze k odpovídající Schiffově bázi **11** (**Obr. 12**).



Obr.12 ORTEP diagram Schiffovy báze **11**

Výsledky uvedené v **Tab. 1** ukazují, že nejúčinnějším ligandem ze série **8–10** je derivát (**2R,5S**)-**8**. Jeho katalytickou aktivitu jsem proto ověřila na reakci dalších aldehydů (aromatických, heteroaromatických a alifatických) s nitromethanem.

Tab. 2 Henryho reakce nitromethanu s různými aldehydy katalyzovaná komplexem Cu(II)-(2*R*,5*S*)-8

Pokus	R	výtěžek (%)	ee (%)
1	4-CNC ₆ H ₄	99	86
2	4-ClC ₆ H ₄	90	91
3	4-PhC ₆ H ₄	88	92
4	2-NO ₂ C ₆ H ₄	96	88
5	Naft-2-yl	87	90
6	Thien-2-yl	46	91(<i>S</i>)
7	<i>n</i> -C ₄ H ₉	67	90
8	PhCH ₂ CH ₂	56	91
9	<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	65	92
10	PhCH=CH	43	90

Ze získaných výsledků (**Tab. 2**) je patrný vliv struktury aldehydu na jeho reaktivitu: chemické výtěžky aromatických aldehydů obsahujících elektronakceptorní skupiny (pokusy 1, 2 a 4) byly velmi vysoké, zatímco alifatické aldehydy poskytovaly příslušné β-nitroalkoholy v podstatně nižších výtěžcích (43–67 %, pokusy 7–10). Dosažená enantioselektivita byla ve většině případů vyšší než 90 % *ee* s výjimkou dvou nejvíce reaktivních aldehydů (pokus 1: 86 % *ee* a pokus 4: 88 % *ee*). Z toho lze předpokládat, že čím vyšší je reaktivita aldehydu, tím nižší je výsledná enantiomerní čistota produktu. Dalším aspektem, který ovlivňuje enantioselektivitu reakce je sterická velikost aldehydu: objemný substituent na formylové skupině zvyšuje enantiomerní přebytek (*t*-Bu 97 % *ee* vs. *n*-Bu 90 % *ee*; 2-NO₂C₆H₄ 88 % *ee* vs. 4-NO₂C₆H₄ 86 % *ee*).

Dále jsem studovala katalytickou aktivitu a enantioselektivitu měďnatých komplexů jak ligandu (**2*R*,5*S*)-8** tak i dříve připravených 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů^[128,310] pro přípravu (*R*)-1-(2,2-dimethyl-4*H*-benzo[*d*-1,3]dioxin-6-yl)-2-nitroethanolu (**Schéma 33**). Tato sloučenina je významným intermediátem v syntéze (*R*)-Salmeterolu (Serevent[®]), který se používá v léčbě chronického astmatu. Působí jako agonista β2-adrenoreceptoru s dlouhotrvajícím účinkem.^[304]

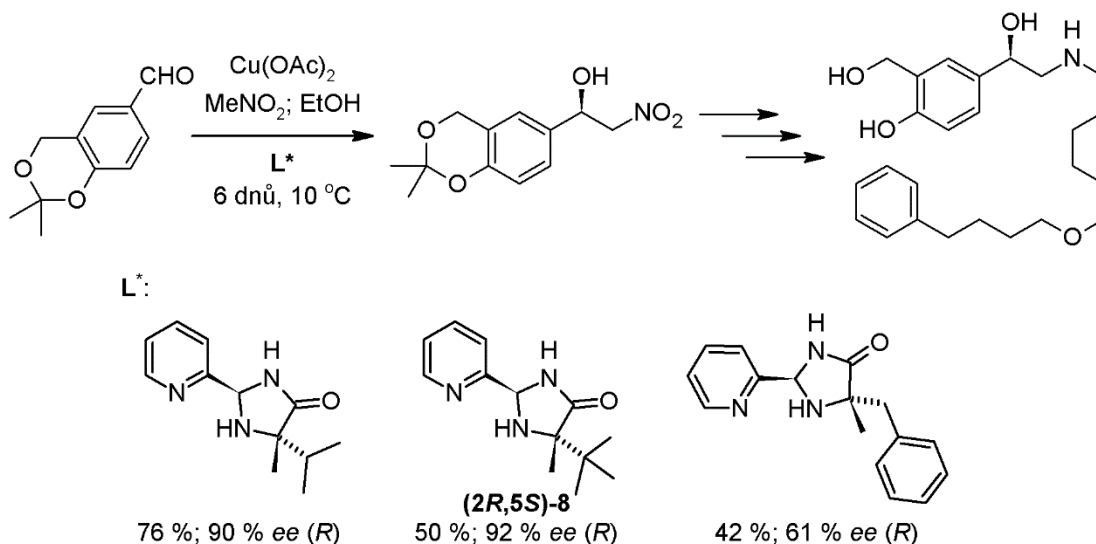
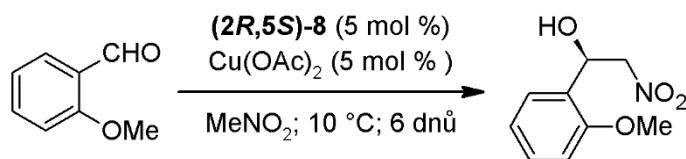


Schéma 33 Příprava (*R*)-1-(2,2-dimethyl-4*H*-benzo[*d*-1,3]dioxin-6-yl)-2-nitroethanolu

Nejvyšší enantiomerní čistoty v produktu jsem dosáhla v případě aplikace měďnatého komplexu 5-*tert*-butyl derivátu **(2*R*,5*S*)-8** (92 % *ee*), s chemickým výtěžkem 50 %. Ze vzájemného srovnání je zřejmé, že 5-isopropyl derivát poskytoval produkt pouze s nepatrně nižší enantioselektivitou (90 % *ee*), avšak s vyšším chemickým výtěžkem (76 %). V případě 5-benzylového derivátu byla enantioselektivita výrazně nižší (61 % *ee*). Derivát Cu(II)-**(2*R*,5*S*)-8** je tedy ze všech tří testovaných zástupců měďnatých komplexů 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů nejvíce enantioselektivní, avšak vykazuje poněkud nižší katalytickou aktivitu než derivát s isopropyl skupinou.

Dále jsem studovala vliv rozpouštědla na katalytickou aktivitu a enantioselektivitu měďnatého komplexu ligandu **(2*R*,5*S*)-8** při asymetrické Henryho reakci nitromethanu s 2-methoxybenzaldehydem (**Tab. 3**). Kromě různých alkoholických rozpouštědel jsem použila také vybraná aprotická (THF, MeCN, CH₂Cl₂ resp. MeNO₂).

Tab. 3 Efekt rozpouštědla na katalytické parametry měďnatého komplexu ligandu **(2R,5S)-8** pro Henryho reakci 2-mehoxybenzaldehydu s nitromethanem

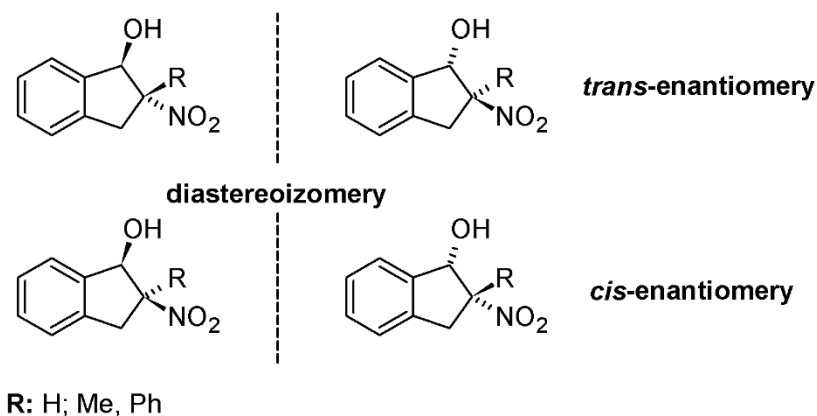


Pokus	Rozpouštědlo	výtěžek (%)	ee (%)
1	MeOH	89	88
2	EtOH	82	92
3	<i>n</i> -PrOH	92	92
4	<i>i</i> -PrOH	96	93
5	<i>n</i> -BuOH	85	91
6	<i>s</i> -BuOH	89	93
7	<i>t</i> -BuOH	86	94
8	<i>t</i> -AmOH	73	89
9	THF	88	90
10	MeCN	75	92
11	CH ₂ Cl ₂	63	91
12	MeNO ₂	81	91

Z výsledků je patrné, že enantioselektivita je srovnatelná ve všech použitých rozpouštědlech a rozpouštědlo nemá významný vliv na enantiomerní přebytek v produktu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo v *t*-BuOH (94 % *ee*, pokus 7), ale pozorované rozdíly lze zahrnout do statistické chyby. V aprotických rozpouštědlech (pokus 9–12) došlo k mírnému poklesu chemického výtěžku (63–88 %). Z tohoto pohledu jsou měďnaté komplexy 2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onů lepšími katalyzátory než měďnaté komplexy bisoxazolinů, které poskytují vysokou enantioselektivitu pouze v protických rozpouštědlech. V aprotických rozpouštědlech je jejich enantioselektivita podstatně nižší.^[319] Z této studie tedy vyplývá, že katalyzátory na bázi imidazolidin-4-onů lze použít jako účinné enantioselektivní katalyzátory Henryho reakce u takových substrátů, které netolerují alkoholická rozpouštědla.

4.3 Studium asymetrické intramolekulární Henryho reakce pro přípravu substituovaných 2-nitroindan-1-olů 23–25

V této části jsem se zaměřila na diastereo- a enantioselektivní přípravu 2-substituovaných 2-nitroindan-1-olů s využitím intramolekulární Henryho reakce. Tyto sloučeniny obsahují ve své molekule dvě centra chiralita a existují tak ve formě 4 stereoizomerů (**Obr. 13**).



Obr. 13 Stereoizomery odvozené od 2-nitroindan-1-olů 23–25

4.3.1 Příprava a charakterizace substituovaných 2-nitro- 23–25 resp. 2-aminoindan-1-olů 26–28

Syntetický postup pro přípravu těchto látek zahrnující inter/intramolekulární Henryho reakci byl popsán teprve nedávno v rámci diplomové^[277] a bakalářské^[278] práce vypracované na Ústavu organické chemie a technologie, Univerzity Pardubice (**Schéma 34**).

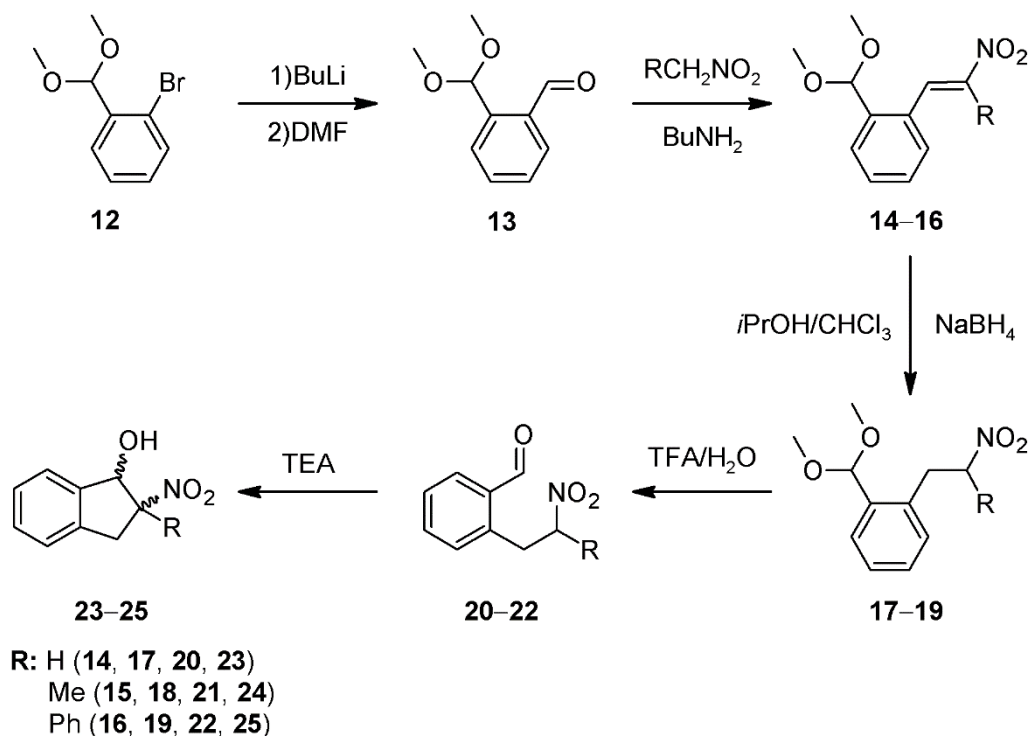
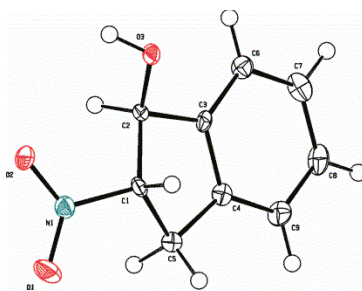


Schéma 34 Příprava 2-nitroindan-1-olů (**23–25**) s využitím inter/intramolekulární Henryho reakce

Tento syntetický postup jsem pro všechny deriváty zopakovala a v určitých bodech modifikovala. Například, prodloužila jsem reakční čas (z 5 h na 24 h) u intermolekulární Henryho reakce látky **13** s příslušným nitroalkanem a zvýšila tak výtěžek pro látky **14** (60 % vs. 35 %) a **15** (43 % vs. 37 %).^[277] Prodloužením reakční doby při reakci látky **13** s fenylnitromethanem však k navýšení výtěžku nedošlo a látku **16** jsem získala ve srovnatelném výtěžku (60 %).^[278] Podobně jsem dosáhla vyšších výtěžků v případě redukce alkenů **14–16**, reakce jsem nechala probíhat přes noc (cca 12–15 h) a zvýšila tak izolovaný výtěžek (z: 80 % pro **17**,^[277] 70 % pro **18**^[277] a 53 % pro **19**^[278]) až na více než 90 %, ve všech případech. Odchráněním těchto látek za popsaných podmínek jsem získala látky **20–22** ve srovnatelných výtěžcích (85–95 %). 2-(2-Nitroalkyl)benzaldehydy **20–22** jsem podrobila cyklizační reakci katalyzované TEA v *i*PrOH a příslušné nitroindan-1-oly – *cis/trans* **23** (96 %; poměr diastereoizomerů 1/4) a *cis/trans* **24** (98 %; poměr diastereoizomerů 1/5) – jsem získala téměř kvantitativně. Cyklizaci látky **21** jsem za stejných podmínek provedla také v MeOH, což vedlo ke zvýšení reakční rychlosti a po 24 h jsem získala látku *cis/trans* **24** (96 %, poměr diastereoizomerů 1/9). Změnou rozpouštědla tedy došlo nejen ke zvýšení reakční rychlosti, ale také k výrazné změně zastoupení jednotlivých diastereoizomerů. Cyklizát *cis/trans* **25** jsem získala v relativně nižším výtěžku (86 %,

poměr diastereoizomerů 1/2). V případě látky **23** jsem zkrátila původní reakční dobu ze 4 h na 2,5 h, a to na základě výrazné změny zbarvení reakční směsi z nažloutlé na tmavě hnědou. Po odpaření jsem získala příslušný cyklizát **23** téměř v kvantitativním výtěžku, na rozdíl od literatury,^[277] kdy autor po 4 h reakční době získal pouze 50% výtěžek. Reakční směs při cyklizaci látky **21** v průběhu reakce tmavne, jako důsledek rozkladu produktu. Rozkladné produkty se mi ovšem nepodařilo identifikovat. Pokusy o rozdělení jednotlivých diastereoizomerů sloupcovou chromatografií v různých mobilních fázích byly vždy neúspěšné.

Na základě dostupné literatury, zabývající se stereochemií derivátu **23**, jsem předpokládala, že majoritním diastereoizomerem je *cis*- isomer.^[320–322] Tento předpoklad jsem se pokusila potvrdit pomocí ¹H NMR NOESY experimentů. Bohužel jsem zjistila, že oba *cis* i *trans* forma vykazují pozitivní NOE mezi vodíky na uhlících C1 a C2. Podobný výsledek jsem pozorovala rovněž u derivátů **24** a **25**, které vykazují pozitivní NOE mezi vodíky na C1 a CH₃ na uhlíku C2 (pro **24**) resp. vodíky v *ortho* poloze fenylu (pro **25**). Určení preferované relativní konfigurace proto muselo být provedeno jinou metodou. Vzhledem k tomu, že se mi podařilo připravit a izolovat více zastoupený izomer sloučeniny **23** v monokrystalické formě, bylo možné provést jeho rentgenostrukturní analýzu. Vhodnou krystalickou formu derivátu **23** jsem získala dvojnásobnou rekrystalizací z toluenu. Tímto způsobem se mi podařilo jednoznačně dokázat, že vzájemné postavení nitro a hydroxylové skupiny ve sloučenině **23** odpovídá konfiguraci *trans*- (**Obr. 14**). Jedná se tedy o opačný diastereoizomer, než je popsán ve starší literatuře.^[320–322]



Obr. 14 ORTEP diagram 2-nitroindan-1-olu ((±)-*trans*-**23**)

Dalším krokem byla redukce nitroskupiny sloučenin **23–25** (**Schéma 35**), kterou jsem musela provést za mírných podmínek, vzhledem k možné hydrogenolýze hydroxylové skupiny benzylového typu. Zvolila jsem proto podmínky popsané v literatuře,^[283] která popisuje redukci analogických sloučenin vodíkem za přítomnosti Adamsova katalyzátoru (PtO₂) v prostředí MeOH.

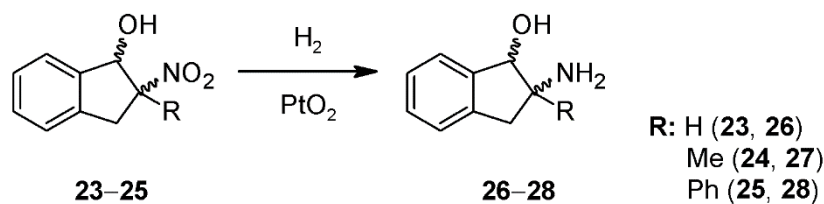


Schéma 35 Redukce nitroderivátů 23–25

Tyto podmínky se ukázaly jako velmi vhodné pro derivát **23**. Redukci jsem provedla při tlaku vodíku 1 atm po dobu 23 h a po zpracování reakční směsi jsem získala surový produkt **26** ve výtěžku 86 % a poměru diastereoizomerů 1/5 (*cis/trans*). Tyto diastereoizomery jsem separovala sloupcovou chromatografií v mobilní fázi MeOH/1% NH₄OH (v/v).^[323] Bohužel se mi touto separací podařilo získat pouze více zastoupený izomer (\pm)-*trans*-**26** (66 %). Stejně reakční podmínky jsem použila i pro přípravu derivátu s fenylovým substituentem **28**, reakční čas jsem však prodloužila na 48 h. Ani po této době neproběhla redukce výchozí látky **25** s úplnou konverzí. Prodloužení reakční doby však mělo za následek částečný rozklad výchozí látky. Produkty rozkladu jsem oddělila ze surové reakční směsi chromatografií na sloupci silikagelu s mobilní fází *n*-hexan/EtOAc (v/v; 1/1). Získala jsem směs dvou diastereoizomerů **28** v poměru 1/3,5 (*cis/trans*). Tyto diastereoizomery jsem se pokusila rozdělit chromatografií na sloupci silikagelu v mobilní fázi *i*PrOH/1% NH₄OH (v/v). Podařilo se mi oddělit pouze více zastoupený diastereoizomer (\pm)-*trans*-**28**, a to v nízkém výtěžku 8 %. Produkt redukce methyl derivátu **24** se mi nepodařilo připravit vůbec. Za výše popsáných podmínek nedošlo k redukci nitroskupiny ani po 72 hodinách. Rozhodla jsem se proto provést redukci derivátu **24** při tlaku vodíku 10 atm po dobu 24 h. Ani za těchto podmínek se ovšem redukce nezdařila. Dle ¹H NMR spektroskopie jsem po ukončení reakce identifikovala v reakční směsi malé množství výchozí látky a značné množství rozkladných produktů.

4.3.2 Diastereoselektivní příprava substituovaných 2-nitroindan-1-olů 23–25

Jak již bylo uvedeno výše, v případě cyklizace látky **21** v methanolicém prostředí došlo k výrazné změně reakční rychlosti i zastoupení jednotlivých diastereoizomerů ve srovnání s původním předpisem (cyklizace v *i*PrOH).^[277] Toto zjištění mne inspirovalo ke studiu vlivu rozpouštědla na diastereoselektivitu intramolekulární Henryho reakce. Provedla jsem proto studii cyklizační reakce všech

2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů **20–22** (10 mg) v různých deuterovaných rozpouštědlech (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$, $\text{benzen-}d_6$, $\text{acetonitril-}d_3$, CD_3OD) (0,5 ml) v přítomnosti různě silné báze: TEA (3 μl), pyridin (Py) (3 μl) nebo *N*-methymorfolin (NMF) (3 μl). Průběh reakce jsem sledovala pomocí ^1H NMR spektroskopie.

Ze získaných kinetických křivek pro jednotlivé látky (viz **Obr. 14–20**) vyplývá, že cyklizační reakce se řídí kinetikou prvního řádu. Toto zjištění je v souladu s předběžnou kinetickou studií, provedenou ve vodných aminových puffech,^[277,278] v níž byl mimo jiné zjištěn i obecně bazicky katalyzovaný průběh cyklizace látky **21** a **22**. Předběžná kinetická studie^[277] také naznačila vliv síly báze na zastoupení jednotlivých diastereoizomerů. Těchto poznatků o vlivu síly báze a charakteru rozpouštědla lze využít pro cílenou diastereoselektivní syntézu 2-nitroindan-1-olů **23–25**. Na základě předběžných kinetických měření^[277,278] a analogie z literatury^[2] lze navrhnout následující mechanismus cyklizace 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů **20–22** (**Schéma 36**).

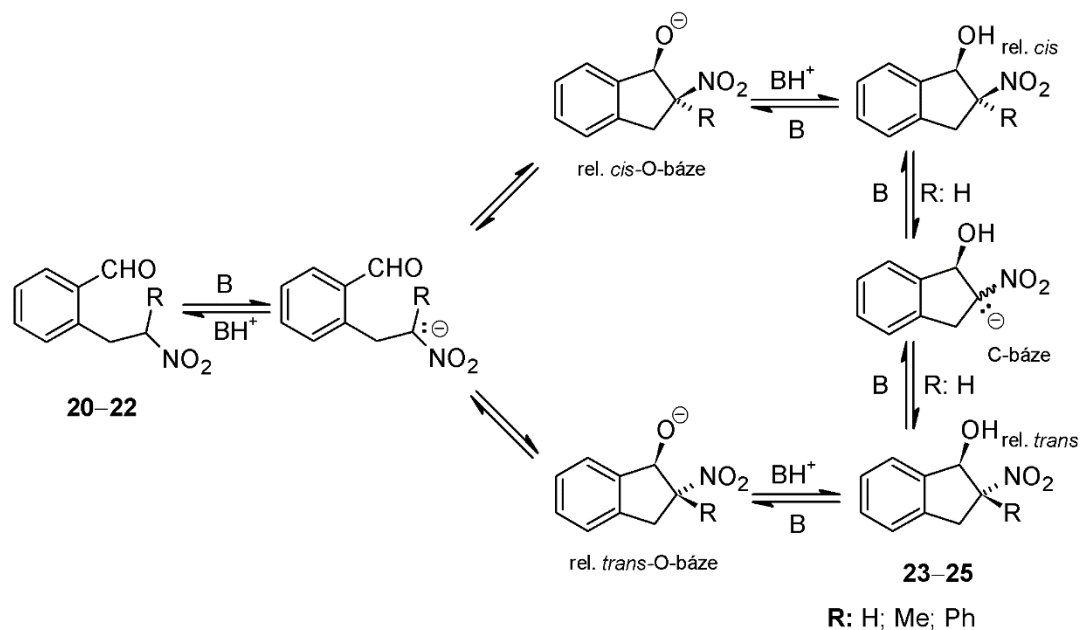


Schéma 36 Předpokládaný mechanismus cyklizace 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů **20–22**

Vzhledem k zjištěné obecné bazické katalýze je pravděpodobně rychlost určujícím stupněm této Henryho reakce disociace 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů **20–22** za vzniku karbaniontu, který následně rychle cyklizuje na konjugovanou bázi (alkoholát) produktů **23–25**. Tento návrh je v souladu s dobře známou skutečností o pomalém proton-transferu z atomu uhlíku a naopak o velmi výhodném (rychlém) vzniku pětičlenných kruhů (entropický faktor).^[324] Nicméně oba kroky mohou

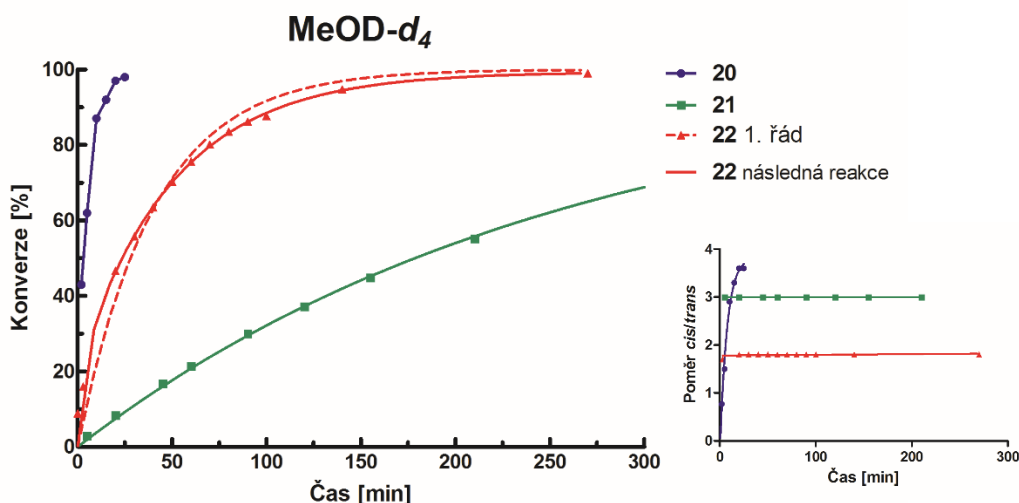
probíhat i souměřitelnou rychlostí, což bylo pozorováno Valtrem^[277] pro derivát **20**. V tomto případě proběhla reakce ve dvou kineticky odlišitelných stupních (disociace a cyklizace), po nichž následovala ještě pomalá eliminace vody za vzniku 2-nitroindenu.

4.3.2.1 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v MeOD-*d*₄/TEA

Cyklizace látky **20** v MeOD-*d*₄ probíhala rychle, již po 2 min od přidání báze zreagovalo 43 % látky **20** a cyklizát **23** vznikal ve formě dvou diastereoizomerů v poměru *cis/trans* 1,3/1. Po 5 min látka **20** zreagovala z 62 %, a došlo ke změně zastoupení diastereoizomerů na *cis/trans* 1/1,5. Po 25 min látka **20** zreagovala z 98 % a docházelo k růstu poměru diastereoizomerů až na *cis/trans* 1/3,6. Z těchto měření jsem stanovila pozorovanou rychlostní konstantu cyklizace derivátu **20** $k_{\text{poz}} = 0,163 \text{ s}^{-1}$. Po pěti dnech došlo k úplnému rozkladu cyklizátu **23** a případnou změnu v zastoupení diastereoizomerů tak nešlo dále sledovat. Cyklizace derivátu **21** probíhala pomaleji, po 90 min zreagovalo pouze 30 % látky, ovšem poměr *cis/trans* diastereoizomerů látky **24** (1/3) se v průběhu měření neměnil. Reakce dosáhla téměř stoprocentní konverze až po 24 h, avšak z důvodů přehlednosti nejsou tyto body v grafu uvedeny. Vypočtená hodnota pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **21** je $k_{\text{poz}} = 3,96 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. V případě fenyl derivátu **22** byla rychlost cyklizace rovněž nižší než v případě derivátu **20**, ale v porovnání s methyl derivátem **21** probíhala cyklizace rychleji. Již po 30 min dosáhla konverze 55 % a poměr diastereoizomerů cyklizátu **24** se pohyboval v rozmezí *cis/trans* 1/1,75. Reakce dosáhla kvantitativní konverze až po téměř 27 h a hodnota pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **22** je $k_{\text{poz}} = 2,38 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Ve všech ¹H NMR spektrech derivátů **20–22** měřených v MeOD-*d*₄ jsem pozorovala vznik poloacetalu, jehož zastoupení se s časem neměnilo. Tabulka s konkrétními daty je uvedena v příloze, **Tab. 1**.

Uvedená měření ukazují, že konjugovaná báze derivátu **20** poskytuje přednostně stereoizomer produktu **23** s relativní konfigurací *cis*, který je však méně termodynamicky stabilní a přeměňuje se na stabilnější izomer s relativní konfigurací *trans*. Vzájemná přeměna *cis/trans* produktu **23** je možná buď přes jeho konjugovanou C-bázi, nebo zpětnou reakcí - otevíráním kruhu odpovídajícího alkoholátu. U obou zbývajících 2-(2-nitroalkyl)benzaldehydů **21** a **22** byla změna zastoupení *cis* a *trans* stereoizomerů v průběhu cyklizace možná pouze uplatněním zpětného otvírání kruhu

produktů **24–25**, vzhledem k blokaci přeměny *cis/trans* izomerů přes C-bázi (produkty **24** a **25** nemají odštěpitelný vodík z uhlíku, který váže NO₂ skupinu). Abych potvrdila tento způsob epimerace derivátů **24–25**, provedla jsem experiment, při kterém byl cyklizát **24** s poměrem obou diastereoizomerů *cis/trans* 1/2,4, získaný v acetonitrilu (viz níže), rozpuštěn v MeOD-*d*₄ s přidavkem TEA. Již během 20 min byla pozorována změna v zastoupení obou diastereoizomerů až na hodnotu poměru *cis/trans* 1/3. Tento experiment tak jednoznačně potvrzuje otevírání kruhu cyklizátu **24** a ukazuje tak na uplatnění této reakční cesty. Uvedené otevírání kruhu je poměrně překvapivé, a to vzhledem k tomu, že efektivní molarita nukleofilu při cyklizaci je velmi vysoká a vznikající vazba C–C je obecně velmi pevná. Důvodem poněkud nižší rychlosti cyklizace je pak pravděpodobně velmi účinná solvatace vznikajícího necyklického karbaniontu, která zvyšuje jeho stabilitu.

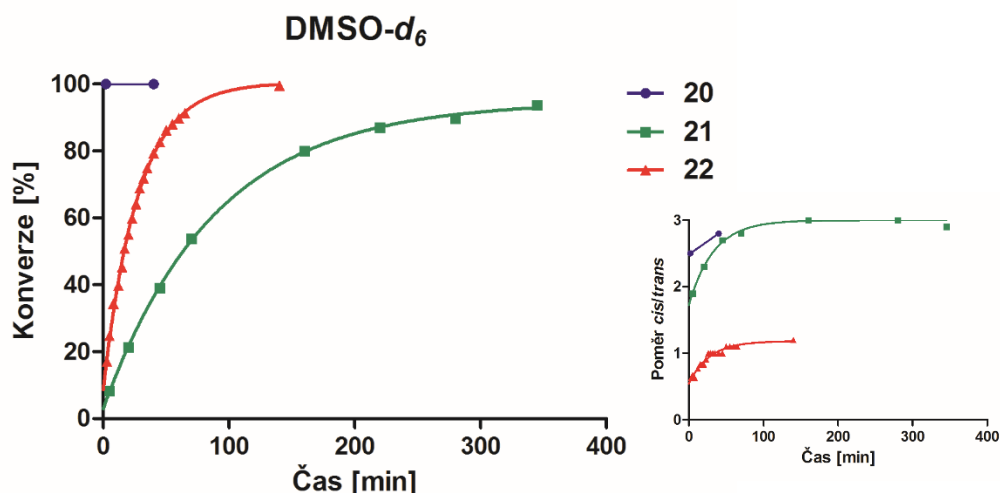


Obr. 15 Grafické znázornění cyklizace látek **20–22** v MeOD-*d*₄/TEA (křivka pro látku **22** neodpovídá kinetice 1. řádu, ale následné reakci)

4.3.2.2 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v DMSO-*d*₆/TEA

Cyklizaci látky **20** v DMSO-*d*₆ jsem nemohla sledovat, protože proběhla takřka okamžitě po přidavku TEA a v čase 2 min jsem změřila pouze spektrum cyklizátu **23** ve formě dvou diastereoizomerů v poměru *cis/trans* 1/2,5. Tento poměr se ovšem v čase mírně změnil, po 40 min od přidání báze bylo zastoupení jednotlivých stereoizomerů již v poměru *cis/trans* 1/2,8. Vzorek jsme opět změřila po 5 dnech, avšak po této době již došlo k úplnému rozkladu cyklizátu **23**. Cyklizace derivátu **21** probíhala poněkud pomaleji, teprve po 70 min zreagovalo cca 50 % nitroaldehydu **21** a poměr obou diastereoizomerů produktu cyklizace **24** postupně narostl

z *cis/trans* 1/1,9 až na 1/2,8. Poměr těchto stereoizomerů byl nejvyšší v čase 220 min (1/3,1), kdy konverze **21** na **24** dosáhla 87 %. Poté se již poměr *cis/trans* dále nezvyšoval, naopak se snižoval, a to až na konečnou hodnotu 1/2,4, která byla změřena jak po 28 h, tak i po 48 h. Z těchto měření jsem stanovila pozorovanou rychlostní konstantu cyklizace derivátu **21** $k_{\text{poz}} = 1,13 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Rovněž cyklizace látky **22** se ukázala jako zajímavá. Již po 5 min konverze dosáhla 25 % a cyklizát **25** obsahoval oba diastereoizomery, lišící se relativní konfigurací *cis* a *trans* v poměru 1,5/1. Po 17 min, kdy konverze dosáhla 50 %, byl však tento poměr jen 1,2/1 a v čase 50 min, kdy konverze dosáhla 86 %, byl již tento poměr obrácený, tj. 1/1,1. Po 140 min byla konverze téměř kvantitativní s poměrem diastereoizomerů *cis/trans* 1/1,2. Poslední měření jsem provedla po 22 h a poměr diastereoizomerů byl *cis/trans* 1/1,3. Hodnota pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **22** je $k_{\text{poz}} = 3,61 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Tabulka se všemi daty je uvedena v příloze **Tab. 2**. Je zřejmé, že časová změna v zastoupení vznikajících diastereoizomerů u cyklizátů **24** a **25** není způsobena epimerací konjugované C-báze, protože na uhlíku nesoucím NO₂ skupinu není přítomný kyselý vodík. Jako jediná možná cesta se tak, stejně jako v MeOD-*d*₄, jeví otevírání kruhu konjugované O-báze cyklizátu **24** a **25** na konjugovanou C-bázi **24** a **25**, která znovu cyklizuje na produkt s opačnou relativní konfigurací. Hybnou silou je zde opět větší termodynamická stabilita *trans*-produktu.

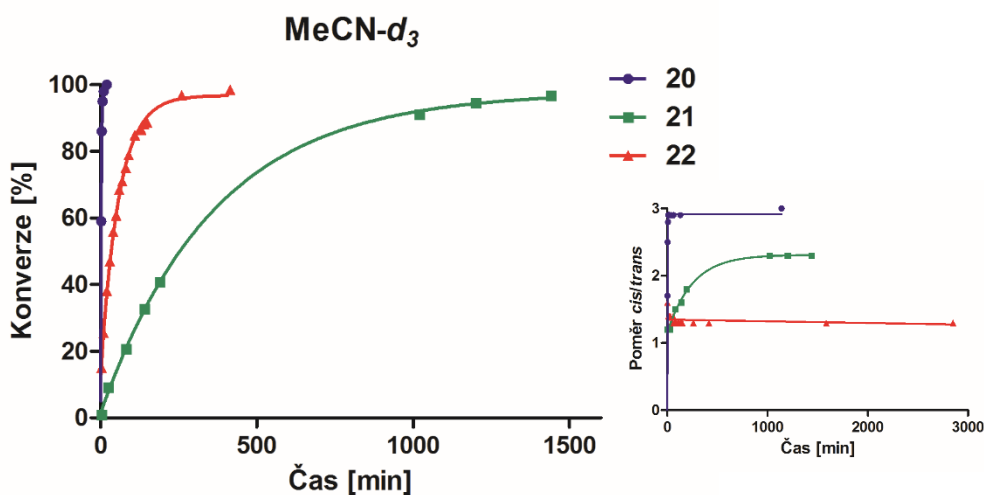


Obr. 16 Grafické znázornění cyklizace látek **20–22** v DMSO-*d*₆/TEA

4.3.2.3 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v MeCN-*d*₃/TEA

Také v MeCN-*d*₃, jakožto polárním aprotickým rozpouštědlem, probíhala cyklizace derivátů **20–22** relativně rychle. Pro látku **20** jsem již po 2 min od přidání

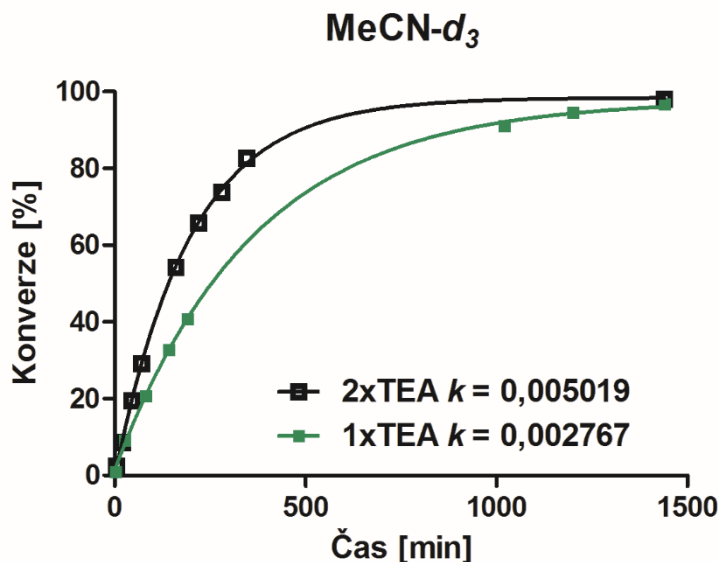
báze pozorovala vznik cyklizátu **23** s 59% konverzí a s poměrem diastereoizomerů *cis/trans* 1/1,7. Tento poměr dále rostl a v čase 20 min, kdy konverze dosáhla 100 %, byl jejich poměr 1/2,9 (*cis/trans*). Tato hodnota se již v čase prakticky neměnila, a to ani po 19 h. Stanovila jsem hodnotu pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **20** $k_{\text{poz}} = 0,537 \text{ s}^{-1}$. Derivát **21** reagoval o poznání pomaleji, ani po 190 min nebylo dosaženo 50% konverze. Rovněž poměr diastereoizomerů látky **24** rostl z poměru *cis/trans* 1/1,2 (po 3 min) až na hodnotu 1/2,3, dosaženou při 90% konverzi v čase 17 h. Tento poměr jsem našla i při měření po 7 dnech. Hodnota pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **21** je $k_{\text{poz}} = 2,77 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Fenylový derivát **22** vykazoval odlišné chování. Reakce probíhala o poznání rychleji v porovnání s methyl derivátem **21**, konverze dosáhla 50 % již po 40 min, ale poměr diastereoizomerů se v tomto případě s časem výrazně neměnil. Počáteční poměr *cis/trans* 1/1,6 mírně klesal až do 90. min, kdy byla konverze 79 % a poměr diastereoizomerů *cis/trans* 1/1,3. Při dalším sledování jsem zjistila, že poměr kolísá okolo hodnoty 1/1,3–1,4. Tento poměr se již významně neměnil ani po 48 h. Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **22** nabývá hodnoty $k_{\text{poz}} = 1,74 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Tabulka s konkrétními daty je uvedena v přílohách **Tab. 3**.



Obr. 17 Grafické znázornění cyklizace látek **20–22** v MeCN- d_3 /TEA

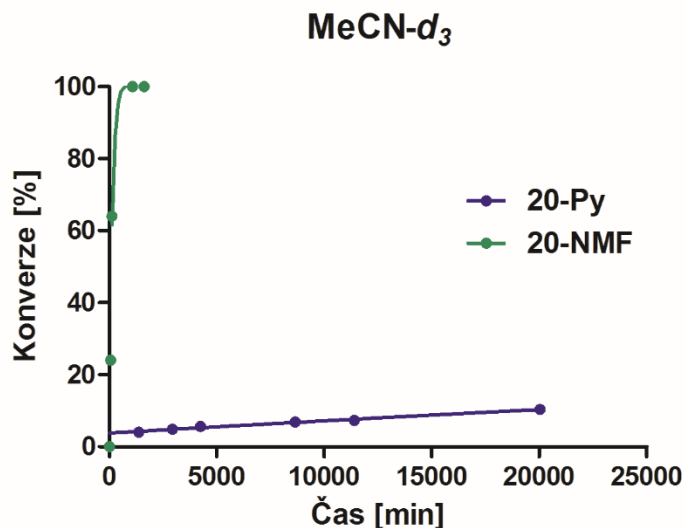
U látky **21** jsem rovněž studovala vliv množství a síly použité báze na rychlost reakce a zastoupení diastereoizomerů (**Obr. 18 a 19**). V provedeném pokusu jsem množství TEA zdvojnásobila, ostatní parametry cyklizační reakce zůstaly stejné jako v předchozích měřeních. Jak se ukázalo, dvojnásobné množství použité báze (6 μl místo 3 μl TEA) urychluje cyklizaci zhruba dvojnásobně, avšak zastoupení

jednotlivých diastereoizomerů bylo u obou pokusů srovnatelné. Konečný poměr diastereoizomerů byl 1/2,3 (*cis/trans*).



Obr. 18 Studium vlivu množství báze na rychlost cyklizace derivátu **21**

V další části této práce jsem se rozhodla prostudovat vliv síly použité báze na rychlost cyklizace a zastoupení jednotlivých diastereoizomerů. Pro studium cyklizace látky **20** jsem jako báze kromě TEA ($pK_a^{(\text{MeCN})} = 18,82$)^[325] zvolila pyridin ($pK_a^{(\text{MeCN})} = 12,53$)^[325] a *N*-methylmorfolin ($pK_a^{(\text{MeCN})} = 15,68$)^[326]. Při použití pyridinu probíhala cyklizace nesubstituovaného derivátu **20** velmi pomalu. Vzhledem k možnostem zachování podmínek reakčního prostředí (odpařování rozpouštědla z kyvety) jsem poslední měření provedla po 14 dnech od namíchání vzorku. Po této době proběhla cyklizace látky **20** pouze z 10 %, což odpovídá hodnotě pozorované rychlostní konstanty cca $9 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$. V případě, kdy jsem za stejných podmínek použila jako bázi *N*-methylmorfolin, probíhala cyklizace látky **20** podstatně rychleji než s pyridinem, avšak v porovnání s TEA, byla tato reakce pomalejší. Po 60 min byla konverze látky **20** pouze 24 % a poměr diastereoizomerů *cis/trans* 1,2/1. Po 120 min již byla konverze 64 % a poměr diastereoizomerů se změnil na 1/1,6. Další měření jsem provedla po 18 h a konverze již dosáhla 100 % a poměr diastereoizomerů se ustálil na 1/3 a dále se neměnil. Tento poměr byl stejný jako při použití TEA. Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **20** v NMF nabývá hodnoty $k_{\text{poz}} = 3,61 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ (v TEA: $k_{\text{poz}} = 0,537 \text{ s}^{-1}$). Tabulka s konkrétními daty je uvedena v přílohách **Tab. 4**.



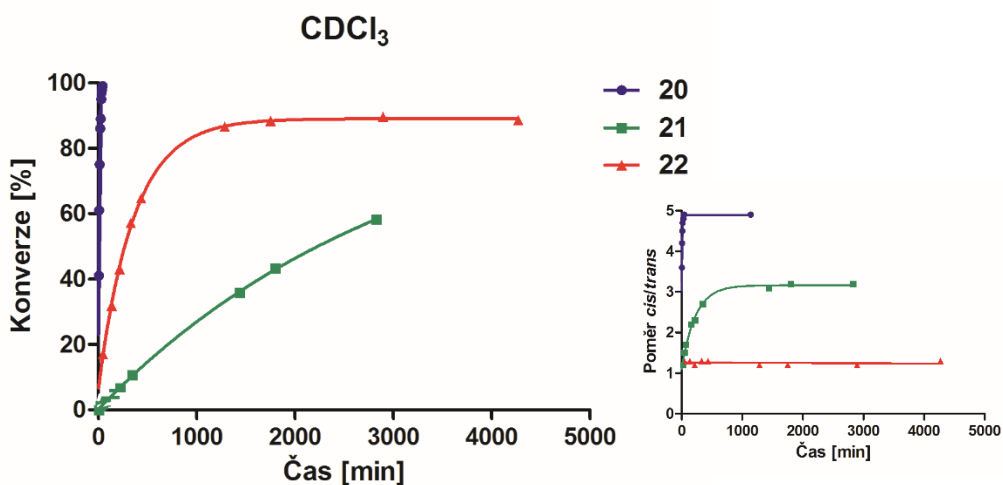
Obr. 19 Studium vlivu síly použité báze na rychlost cyklizace derivátu **20**

Uvedené pokusy potvrzují uplatnění obecné bazické katalýzy v průběhu reakce v nevodném prostředí a prokazují zásadní vliv síly báze na rychlost změny relativní konfigurace produktu. Síla báze však nemá vliv na rovnovážné zastoupení obou diastereoizomerních párů s relativní konfigurací *cis* a *trans*.

4.3.2.4 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v CDCl₃/TEA

Pro ověření závěru o mechanismu vzájemné přeměny diastereoizomerů produktu **20–22** s relativní konfigurací *cis* a *trans*, jsem kinetiku cyklizace a především časovou změnu zastoupení diastereoizomerů s relativní konfigurací *cis* a *trans* sledovala i v méně polárních rozpouštědlech. Reakční rychlost cyklizace derivátů **20–22** v CDCl₃ byla nižší než u polárnějších rozpouštědel, přesto probíhala cyklizace nesubstituovaného derivátu **20** relativně rychle. Již po 3 min konverze dosáhla 40 % a cyklizát **23** obsahoval diastereoizomery v poměru *cis/trans* 1/3,6. Tento poměr v průběhu reakce rostl až na hodnotu 1/4,9, kterého bylo dosaženo v čase 43 min při 99% konverzi. Tento poměr se nadále neměnil ani při stanovení po 19 h. Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **20** nabývá hodnoty $k_{\text{poz}} = 8,75 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Cyklizace derivátu **21** probíhala o poznání pomaleji, konverze 50 % bylo dosaženo až po téměř 48 h. Stanovená hodnota pozorované rychlostní konstanty cyklizace derivátu **21** je $k_{\text{poz}} = 3,2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Poměr diastereoizomerů látky **24** v průběhu reakce rostl z *cis/trans* 1/1,2 ve 20. min až na 1/3,2 po 30 h, který zůstal neměnný i po 21 dnech. Nejzajímavější průběh vykazoval fenyl derivát **22**, 50% konverze byla dosažena v čase 330 min a poměr jednotlivých diastereoizomerů *cis/trans* (1/1,3) se v dalším průběhu

cyklizace již výrazně neměnil. Nejvyšší konverzi 90 % jsem pozorovala po 48 h, další měření po 72 h a 6 dnech však ukázaly, že se konverze na látku **25** nemění. Toto chování jasně potvrzuje výše uvedené zpětné otevírání kruhu produktu **25**. Reakce tak dospěje pouze do rovnováhy mezi výchozí látkou **22** a cyklizátem **25** s rovnovážnou konstantou cca $K = 9$. Důvodem může být zvýšená resonanční, případně solvatační stabilizace konjugované báze výchozí látky **22**. Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **22** nabývá hodnoty $k_{\text{poz}} = 2,79 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Tabulka s konkrétními daty je uvedena v přílohách **Tab. 5**.

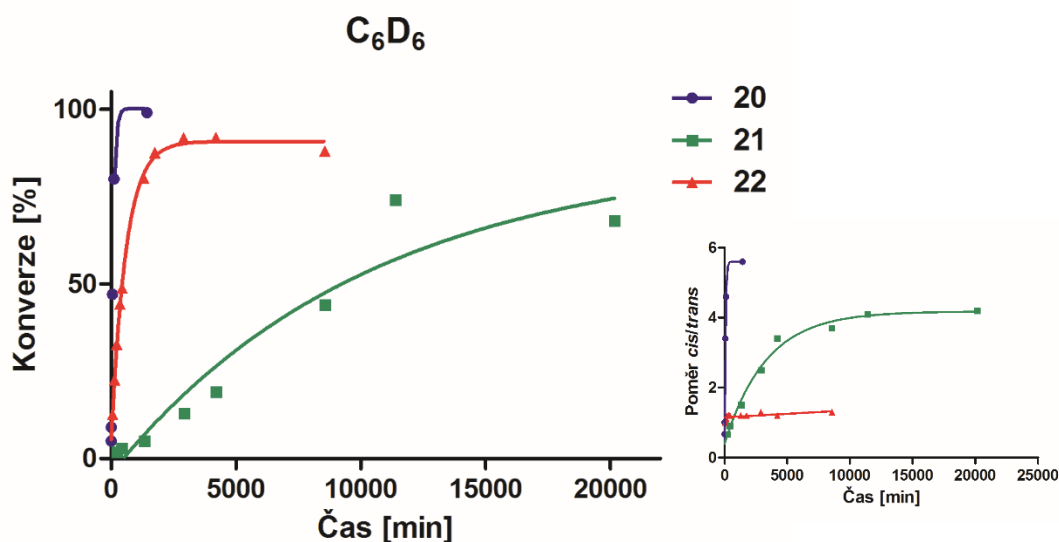


Obr. 20 Grafické znázornění cyklizace látek **20–22** v CDCl_3/TEA

4.3.2.5 ^1H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v $\text{C}_6\text{D}_6/\text{TEA}$

V nepolárním deuterovaném benzenu probíhala cyklizace velmi pomalu a konverze dosáhla 100 %, v rámci provedených experimentů, jen pro nejreaktivnější derivát **20**. Po 2 min byla konverze pro tento derivát jen 5 % a poměr diastereoizomerů byl *cis/trans* 1,5/1. Tento poměr se v čase měnil a po 60 min, kdy konverze dosahovala téměř 50 %, byl tento poměr již *cis/trans* 1/3,4. S rostoucí konverzí poměr dále rostl, konverze 100% reakce dosáhla po 24 h a konečný poměr diastereoizomerů byl 1/5,6 (*cis/trans*). Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **20** nabývá hodnoty $k_{\text{poz}} = 1,16 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Cyklizace derivátu **21** probíhala nejpomaleji ze všech studovaných cyklizací. Po 230 min byla konverze pouze 1,5 % v poměru diastereoizomerů *cis/trans* 1,5/1. Také tento poměr se v průběhu reakce měnil a po 2 dnech, kdy konverze byla pouze 13 %, se poměr změnil na hodnotu 1/2,6 (*cis/trans*). Reakce dosáhla konverze 50 % až po 6 dnech, po 8 dnech již konverze dosahovala 74 %, přičemž poměr studovaných diastereoizomerů se zvýšil až na *cis/trans* 1/4,2.

Pozorovaná rychlostní konstanta cyklizace derivátu **21** nabývá nízké hodnoty $k_{\text{poz}} = 3,5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Také cyklizace fenyl derivátu **22** probíhala pomalu. Z jednotlivých měření jsem stanovila pozorovanou rychlostní konstantu cyklizace derivátu **22** $k_{\text{poz}} = 1,70 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. První měření jsem provedla po 50 min, kdy konverze derivátu **22** byla pouze 13 % v poměru diastereoizomerů *cis/trans* 1/1. Reakce dosáhla reakčního poločasu až po 430 min a poměr diastereoizomerů byl v tomto případě *cis/trans* 1/1,2. Tento poměr se v průběhu celého měření významně neměnil a pohyboval se v rozmezí 1/1,1–1/1,3. Po třech dnech reakce dosáhla více než 92% konverze. Poslední měření, které jsem provedla po 6 dnech, však ukázalo, že konverze již dále nevzrůstá. Stejně jako v CDCl_3 , reakce obou derivátů **21** a **22** v benzenu- d_6 se ustálí v dynamické rovnováze, což přímo prokazuje vratnost cyklizačního kroku. V nejméně polárním benzenu jsem rovněž pozorovala nejvyšší preference diastereoizomeru s konfigurací *trans*. Tabulka s konkrétními daty je uvedena v příloze **Tab. 6**.



Obr. 21 Grafické znázornění cyklizace látek **20–22** v $\text{C}_6\text{D}_6/\text{TEA}$

4.3.3 Enantioselektivní příprava 2-nitro-2-methylindan-1-olu (**24**)

Vzhledem k tomu, že 2-substituované 2-nitroindan-1-oly obsahují ve své molekule dvě chirální centra (**Obr. 13**), rozhodla jsem se prověřit možnosti enantioselektivní syntézy derivátu **24**. Jako první jsem se zaměřila na aplikaci mnou vyvinutého enantioselektivního katalyzátoru – měďnatého komplexu ligandu (**2R,5S**)-**8** (**Schéma 37**), který byl úspěšně použit pro asymetrickou intermolekulární verzi Henryho reakce různých aldehydů s nitromethanem (**Tab. 2**).

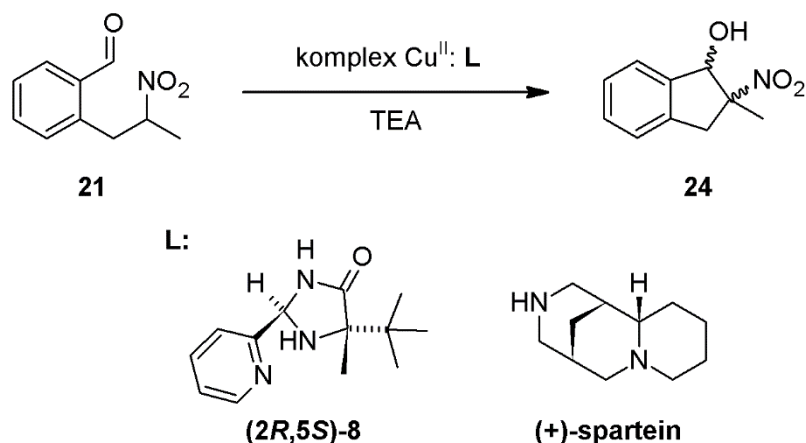


Schéma 37 Příprava sloučeniny **24** katalyzovaná měďnatým komplexem ligandu **(2R,5S)-8** nebo (+)-sparteinu

Pro tuto studii jsem jako substrát vybrala 2-(2-nitropropyl)benzaldehyd (**21**), a jako katalyzátor použila měďnatou sůl $\text{Cu}(\text{OAc})_2/(\mathbf{2R,5S})\text{-8}$ (5 mol %) v *i*PrOH. Problém nastal již na začátku reakce, kdy se látka **21** v tomto alkoholu nerozpouštěla a reakci jsem provedla v heterogenní směsi. Reakci jsem sledovala pomocí tenkovrstvé chromatografie v mobilní fázi *n*-hexan/EtOAc (v/v; 3/1). Ani po 4 dnech jsem nepozorovala vznik produktu, což mohlo být způsobeno nehomogenitou prostředí. Proto jsem k reakční směsi přidala CH_2Cl_2 , čímž vznikl homogenní roztok, ale ani v tomto případě nedošlo ke vzniku požadovaného cyklizátu **24**. Reakci jsem rovněž provedla za katalýzy komplexem ligandu **(2R,5S)-8** s bezvodým CuCl_2 a TEA v *i*PrOH (homogenní prostředí), což ovšem vedlo ke stejnému výsledku. Proto jsem se rozhodla změnit reakční prostředí a reakci s tímto komplexem jsem provedla v suchém CH_2Cl_2 . Za těchto podmínek reakce probíhala, avšak velmi pomalu, po 8 týdnech jsem získala směs výchozího benzaldehydu **21** a požadovaného produktu **24** v poměru *cis/trans* 1/2. Produkt cyklizace **24** jsem izolovala sloupcovou chromatografií na silikagelu v mobilní fázi *n*-pentan/Et₂O (v/v; 5/1). Produkt jsem získala v poměru diastereoizomerů 1/2,3 *cis/trans* s výtěžkem 33 %, avšak ve formě racemátu.

Rozhodla jsem se proto vyzkoušet jako katalyzátor měďnatý komplex komerčně dostupného alkaloidu (+)-sparteinu s bezvodým CuCl_2 a TEA, jehož použití pro asymetrickou Henryho reakci je popsáno v literatuře.^[131] Reakci jsem provedla v absolutním MeOH pod inertní atmosférou při teplotě $-10\text{ }^\circ\text{C}$, avšak za těchto podmínek jsem nepozorovala vznik produktu cyklizace.

V dalším pokusu jsem se rozhodla vyzkoušet asymetrickou syntézu založenou na principu kinetické rezoluce. Jako chirální bazický katalyzátor jsem zvolila enantiomerně čistý alkaloid (–)-cinchonidin (**Schéma 38**).

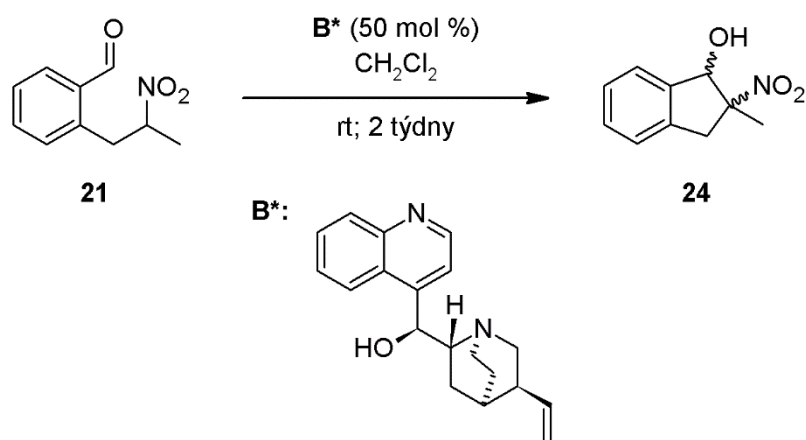


Schéma 38 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce derivátu **21**
- kinetická rezoluce

Reakci jsem provedla v suchém CH_2Cl_2 , reakční čas byl dva týdny. Produkt cyklizace **24** jsem po izolaci na sloupci silikagelu v mobilní fázi *n*-pentan/ Et_2O (v/v; 5/1) získala téměř v 50% výtěžku s poměrem diastereoizomerů *cis/trans* 1/2,6, avšak ve formě racemátu.

Další možnost, kterou jsem ověřila, bylo provedení této asymetrické reakce v kavitě β -cyklodextrinu. Aby došlo k určité enantioselekcii v průběhu reakce, je nezbytnou podmínkou inkluze reaktantů do vnitřního prostoru cyklodextrinu. Jeho specifické prostorové uspořádání by tak mohlo ovlivnit konfiguraci na stereogenních centrech vznikajícího produktu (**Schéma 39**). Vzhledem k nízké polaritě substrátu se tato inkluze do kavity cyklodextrinu dala očekávat.

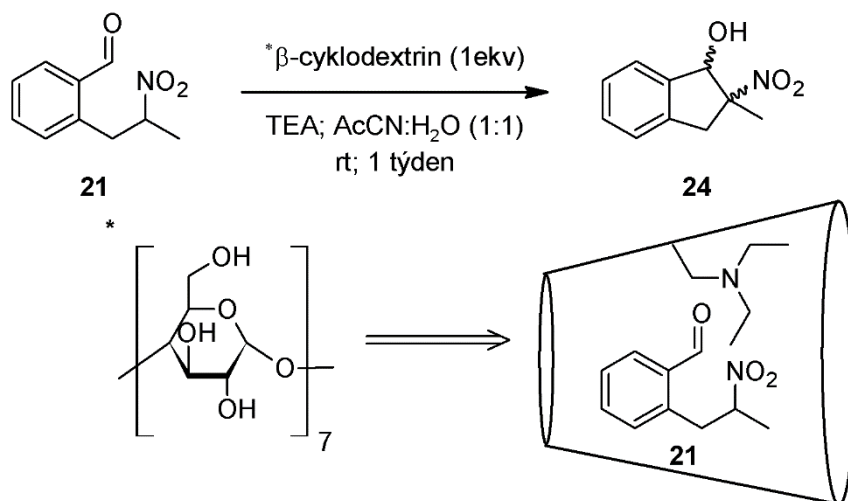


Schéma 39 Asymetrická intramolekulární Henryho reakce sloučeniny **21** - inkluze reaktantů do kavity β -cyklodextrinu

Z tohoto důvodu jsem reakci provedla v polárním rozpouštědle (MeCN/H₂O; 1/1). Průběh reakce jsem sledovala pomocí tenkovrstvé chromatografie v mobilní fázi *n*-pentan/Et₂O (v/v; 5/1). Po 7 dnech jsem v reakční směsi nepozorovala žádný výchozí nitroalkylbenzaldehyd **21**. Zpracováním reakční směsi jsem získala surový cyklizát **24** v poměru diastereoizomerů *cis/trans* 1/4 s výtěžkem 99 %. Produkt jsem dále čistila sloupcovou chromatografií v mobilní fázi *n*-pentan/Et₂O (v/v; 5/1) a látku **24** jsem získala opět ve formě racemátu.

Poslední možností, kterou jsem vyzkoušela pro enantioselektivní syntézu 2-substituovaných 2-nitroindan-1-olů, byla asymetrická reduktivní Henryho reakce, tj. Michaelová adice hydridu na nitroalken a následná intramolekulární Henryho reakce. Výchozím substrátem pro tento typ reakce byl 2-(2-nitroprop-1-enyl)benzaldehyd (**29**) (**Schéma 40**). Tuto reakci jsem studovala s použitím chirální verze tzv. Strykerova činidla [Ph₃PCuH]₆, ve kterém byl trifenylfosfin nahrazen chirálním ligandem (*S*)-Tol-BINAP.^[327] Aktivní formu katalyzátoru jsem připravila *in situ* působením fenylsilanu na komplex (*S*)-Tol-BINAP s Cu(OAc)₂.^[328] V literatuře jsem našla pouze jedinou zmínku o reduktivní diastereoselektivní intramolekulární Henryho reakci indukovanou Strykerovým činidlem.^[6] Enantioselektivní provedení této reakce nikdo nepopsal, ale s úspěchem se chirální verze Strykerova činidla používá v reduktivních enantioselektivních inter-^[328,329] i intramolekulárních^[328,330] aldolových kondenzacích. Pro reduktivní asymetrickou Henryho reakci jsem použila modifikovaný postup, který se používá pro asymetrické redukce nitroalkenů.^[331]

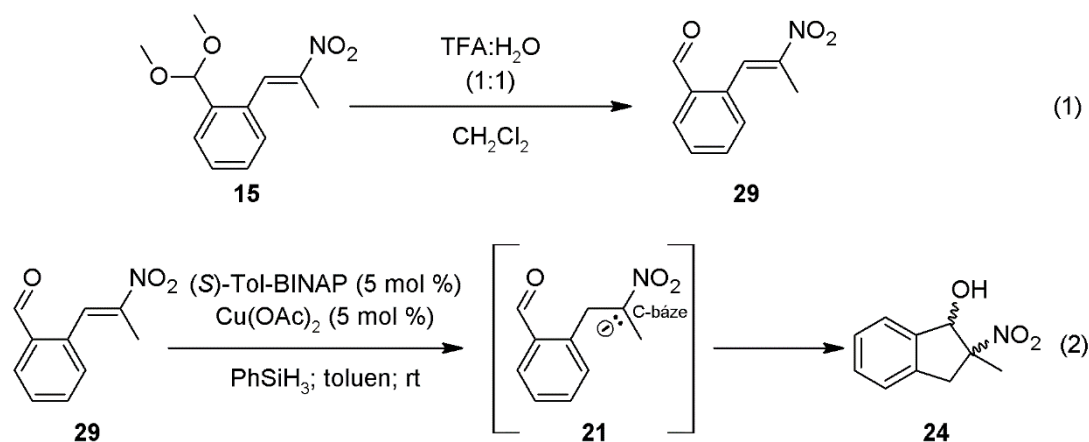


Schéma 40 Asymetrická redukční Henryho reakce derivátu **29**

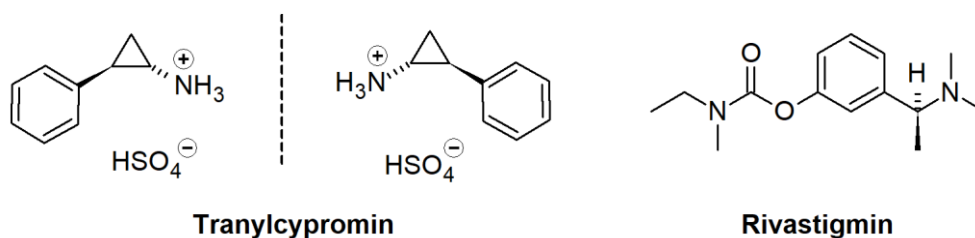
Výchozí látku **29** jsem připravila stejným způsobem jako ochráněné deriváty **17–19** (Schéma 40 – reakce (1)). Sloučeninu **29** jsem získala v kvantitativním výtěžku a bez dalšího čištění jsem ji použila v asymetrické redukční Henryho reakci (Schéma 40 – reakce (2)).

Při redukci nitroalkenů Strykerovým činidlem generovaným *in situ* pozorovali autoři v předchozích pracích^[332,333] vznik vedlejších produktů, jako důsledek redukce nitroskupiny silanem (např. na oxim). Proto jsem se rozhodla přidávat fenylsilan do reakční směsi postupně, pomocí lineárního dávkovače „syringe pump“. Vycházela jsem z předpokladu, že takto bude výsledná koncentrace fenylsilanu v reakční směsi zanedbatelná, neboť se bude spotřebovávat na obnovu Strykerova činidla. To pouze aduje hydridový anion na polarizovanou vazbu C=C, avšak nezpůsobuje redukci nitroskupiny. Po adici hydridu vzniklá C-báze intermediátu **21** následně podléhá intramolekulární Henryho reakci. Nepřítomnost významné koncentrace fenylsilanu měla tedy vést k potlačení nežádoucí redukce nitroderivátů resp. aldehydické skupiny substrátu. Bohužel, i přes četné modifikace a pokusy, které jsem provedla, se mi cyklizát **24** touto metodou nepodařilo získat.

Na závěr je tedy nutné konstatovat, že se mi ani v jednom z pokusů nepodařilo provést enantioselektivní intramolekulární Henryho reakci derivátu **21**. Pokud byl nějaký produkt **24** izolován, tak vždy ve formě racemátu.

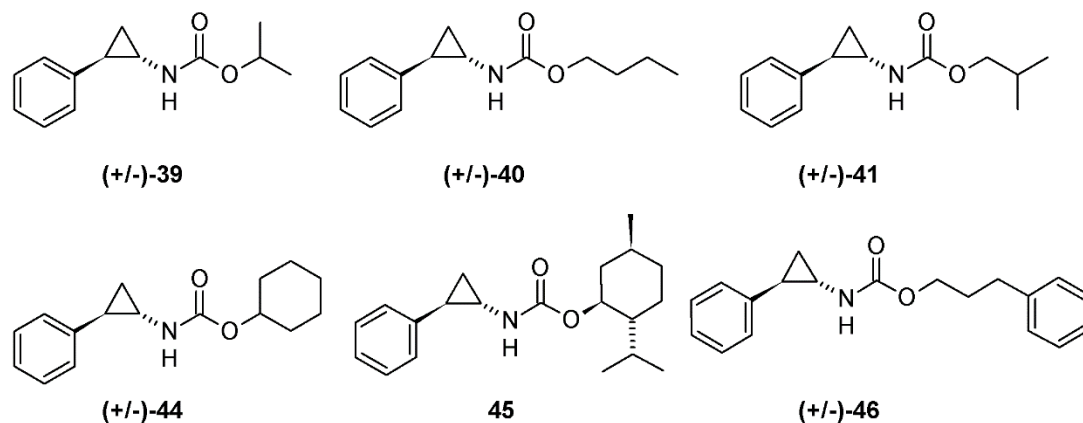
4.4 Příprava, charakterizace a *in vitro* biologické studie *N*-cykloalkylkarbamátů a *N*-fenyلكarbamátů jako potenciálních inhibitorů cholinesteráz

V této části jsem navázala na výsledky studie provedené v rámci své diplomové práce (DP),^[334] ve které jsem se zabývala přípravou a charakterizací karbamátů odvozených od léčiva Tranlycyprominu (Parnate[®], Jatrosom[®]) (**Obr. 22**). Jak již bylo zmíněno, cyklopropanový skelet můžeme najít v mnoha přírodních a biologicky aktivních látkách.^[335] Příkladem může být právě tento racemický (\pm)-*trans*-2-fenylcyklopropan-1-amin, který se v praxi používá pro léčbu endogenních depresí. V organismu působí jako inhibitor enzymu monoaminoxidázy (MAO).^[292] Také sloučeniny obsahující karbamátové uspořádání hrají v současnosti významnou roli v medicíně a ve vývoji nových léčiv. Kromě karbamátu Rivastigminu (Exelon[®]) (**Obr. 22**), který se jako jeden z mála schválených látek používá pro léčbu klinických příznaků Alzheimerovy choroby, se jako léčiva používají také Felbamát (antiepileptikum), Flupirtin (analgetikum), Albendazol (antiparazitikum), Efavirenz (inhibitor reverzní transkriptázy), Ritonavir (inhibitor HIV-1 a HIV-2 proteázy) a mnoho dalších.^[336]



Obr. 22 Léčivé látky používané v humánní medicíně

Karbamáty (**Obr. 23**), které jsem připravila v rámci své DP, obsahovaly ve své molekule oba výše zmíněné farmakofory a vykazovaly relativně dobré inhibiční účinky vůči AChE.



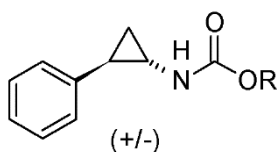
Obr. 23 Karbamáty připravené v rámci DP

Studium lipofility a inhibiční aktivity všech derivátů jsem v rámci disertační práce provedla samostatně ve spolupráci s Katedrou biologických a biochemických věd, Fakulty chemicko-technologické, Univerzity Pardubice, pod vedením Mgr. Šárky Štěpánkové, Ph.D a Mgr. Kataríny Vorčákové, Ph.D. Cytotoxicita všech látek byla studována také na Katedře biologických a biochemických věd, tyto *in vitro* studie provedli RNDr. Karel Královec, Ph.D., RNDr. Radim Havelek, Ph.D. a Mgr. Lenka Brůčková, Ph.D. Molekulární modelování bylo provedeno ve spolupráci s RNDr. Magdalénou Majekovou, Ph.D. z Ústavu Experimentální Farmakologie a Toxikologie, Slovenské akademie věd.

4.5 *N*-(2-Fenylcyklopropyl)karbamáty 39–54 a 64–66

Na základě výše uvedených poznatků jsem rozšířila sérii připravených karbamátů 39–54 (Tab. 4), optimalizovala jejich syntézu, včetně syntézy výchozí racemické (\pm)-*trans*-2-fenylcyklopropan-1-karboxylové kyseliny ((\pm)-34). Všechny karbamáty jsem studovala jako potenciální inhibitory obou cholinesteráz (AChE i BChE) a nechala jsem prověřit jejich toxicitu na buňky typu Jurkat. Vzhledem k tomu, že *N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamáty jsou chirální sloučeniny, připravila jsem vybraný derivát s vysokou inhibiční aktivitou ve všech čtyřech konfiguračních formách. Stanovením jejich inhibiční aktivity a cytotoxicity jsem tak získala informaci o vlivu absolutní konfigurace na stereogenních centrech na výslednou biologickou aktivitu (v případě daného derivátu).^[80]

Tab. 4 Seznam připravených karbamátů **39–54** a **64–66**, inhibiční aktivita vůči AChE a BChE IC_{50} (μ M), lipofilita $\log P_{ow}$ a selektivita inhibitoru vůči jednotlivým enzymům AChE/BChE



Látka		IC_{50} (μ M)		AChE/BChE selektivita	$\log P_{ow}$
Označení	R	AChE	BChE		
(±)- 39	<i>i</i> Pr	72,70 ± 7,36	33,64 ± 0,32	2,16	4,61 ± 0,73
(±)- 40	Bu	66,32 ± 2,10	17,40 ± 0,33	3,81	5,17 ± 0,26
(±)- 41	<i>i</i> Bu	71,45 ± 4,19	17,00 ± 1,09	4,21	6,63 ± 0,45
(±)- 42	<i>t</i> Bu	62,87 ± 0,29	21,06 ± 0,25	2,99	2,90 ± 0,31
(±)- 43	<i>s</i> Bu	77,63 ± 4,23	40,77 ± 1,52	1,90	4,37 ± 0,62
(±)- 44	<i>c</i> Hex	62,78 ± 0,92	29,05 ± 2,57	2,16	4,87 ± 0,88
45	(-)-menthyl	72,25 ± 2,03	9,05 ± 0,01	7,98	4,93 ± 0,19
(±)- 46	3-Ph(CH ₂) ₃ -	60,51 ± 1,07	27,15 ± 0,39	2,22	5,18 ± 0,52
(±)- 47	2-Ph(CH ₂) ₂ -	60,45 ± 2,72	33,33 ± 2,75	1,81	4,31 ± 0,32
(±)- 48	PhCH ₂	54,93 ± 6,33	33,29 ± 0,01	1,65	3,57 ± 0,20
(±)- 49	4-BrPhCH ₂	49,39 ± 1,50	15,85 ± 0,64	3,12	4,52 ± 0,51
(±)- 50	Geranyl	36,07 ± 2,33	47,45 ± 1,48	0,76	5,33 ± 0,43
51	PG-galaktos-6-yl	57,85 ± 0,08	9,79 ± 0,43	5,91	5,00 ± 0,46
(1S,2R)- 51	PG-galaktos-6-yl	54,84 ± 4,80	5,80 ± 0,95	9,45	4,80 ± 0,33
(1R,2S)- 51	PG-galaktos-6-yl	85,87 ± 4,99	32,74 ± 1,92	2,62	4,85 ± 0,78
(1S,2S)- 51	PG-galaktos-6-yl	94,39 ± 0,18	37,59 ± 1,81	2,51	5,87 ± 0,93
(1R,2R)- 51	PG-galaktos-6-yl	82,38 ± 2,20	20,24 ± 0,04	4,07	5,63 ± 0,98
52	PG-glukos-3-yl	63,30 ± 2,99	105,57 ± 2,76	0,60	4,10 ± 0,93
53	PG-pinitol-4-yl	83,41 ± 1,10	109,13 ± 1,53	0,76	4,84 ± 0,22
54	PG-fruktos-1-yl	36,76 ± 5,34	120,61 ± 2,09	0,30	3,50 ± 0,35
64	Galaktos-6-yl	89,63 ± 1,37	–	–	1,78 ± 0,11
65	Glukos-3-yl	75,59 ± 4,28	152,46 ± 2,83	0,50	1,70 ± 0,13
66	Pinitol-4-yl	80,01 ± 0,08	–	–	1,44 ± 0,15
Rivastigmin ^[337]	–	56,10 ± 1,41	38,42 ± 1,97	1,46	–

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr se směrodatnou odchylkou ze dvou nezávislých měření

4.5.1 Příprava a charakterizace karbamátů **39–54** a **64–66**

Sérii karbamátů **39–54** a **64–66** jsem připravila tříkrokovou syntézou (Schéma 41) s dobrými výtěžky 38–82 %. Všechny nově připravené látky jsem charakterizovala bodem tání, ¹H a ¹³C NMR spektroskopii a hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. Optickou čistotu neracemických derivátů jsem stanovila

pomocí chirální HPLC a změřila jejich optickou otáčivost. Čistotu všech sloučenin jsem dále ověřila pomocí elementární analýzy.

Klíčovým meziproduktem pro syntézu karbamátů odvozených od racemického (\pm)-*trans*-2-fenylcyklopropan-1-aminu byla (\pm)-*trans*-2-fenylcyklopropan-1-karboxylová kyselina ((\pm)-**34**). Tu jsem připravila standardní dvoukrokovou syntézou zahrnující vznik cyklopropanového kruhu působením ethyl-diazoacetátu na styren a následnou bazickou hydrolyzou *trans*-ethyl-2-fenylcyklopropankarboxylátu ((\pm)-**30**) (Schéma 41).

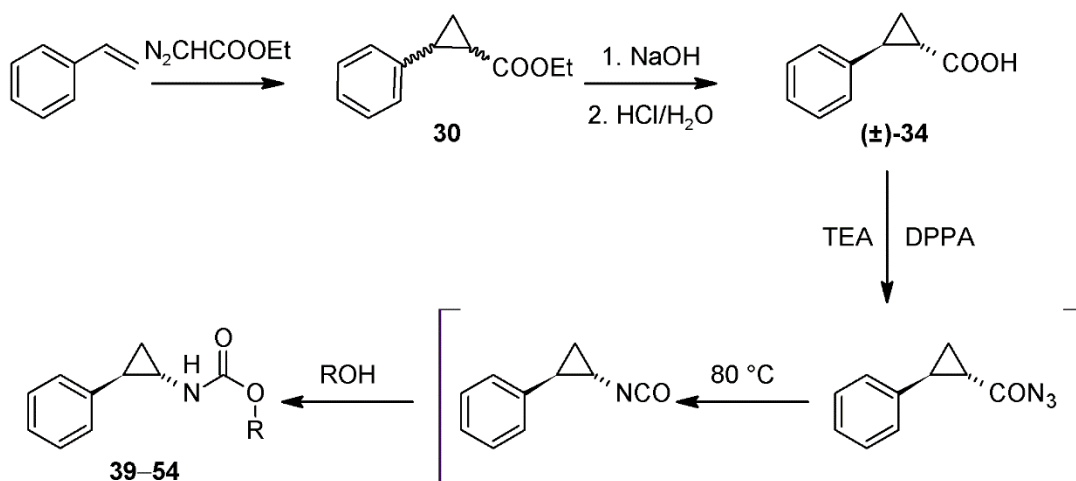


Schéma 41 Příprava *N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamátů **39–54**

V rámci mé DP^[334] byla cyklopropanační reakce, vedoucí k racemické směsi *cis/trans*-**30** (poměr izomerů 1/2), provedena termicky (120–130 °C) bez přítomnosti jakéhokoli katalyzátoru, s výtěžkem 62 %.^[286] Jednotlivé izomery nebyly separovány a méně zastoupený *cis* izomer byl odstraněn frakční krystalizací z vody až po hydrolyze odpovídající směsi *cis/trans*-**30**.^[334] Nevýhodou daného postupu byla časová náročnost a velké ztráty při krystalizaci (50 %). Výhodnějším postupem je dělení izomerů ethylesteru *cis/trans*-**30** sloupcovou chromatografií na silikagelu v mobilní fázi *n*-pentan/EtOAc (v/v; 10/1), která umožňuje izolaci obou forem ve vysoké čistotě a bez ztráty sloučeniny. Alternativním postupem pro přípravu racemátu esteru *cis/trans*-**30** je cyklopropanační reakce ethyl-diazoacetátu se styrenem katalyzována mědnou solí. Tato reakce probíhala za laboratorní teploty v suchém CH₂Cl₂ pod inertní atmosférou. Klíčovým aspektem této reakce bylo velmi pomalé dávkování ethyl-diazoacetátu do reakční směsi, čímž jsem zabránila vzniku diethylmaleinátu resp. fumarátu jakožto produktů dimerizace vznikajícího karbenu.^[338]

Nejprve jsem jako katalyzátor použila měďnou sůl $\text{CuOTf}\cdot\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, tato reakce ovšem poskytovala ester *cis/trans*-**30** pouze v nízkém chemickém výtěžku (20 %). Mnohem lepších výsledků jsem dosáhla při použití měďné soli $\text{Cu}(\text{MeCN})_4^+\text{BF}_4^-$ (výtěžek 75 %, poměr izomerů *cis/trans* 1/2). Izomery *cis* a *trans* jsem rozdělila sloupcovou chromatografií na silikagelu v mobilní fázi *n*-pentan/EtOAc (v/v; 10/1).

Opticky čisté formy esteru **30** jsem připravila podle Evanse a kol.^[197] s využitím enantioselektivní katalýzy. Jako katalyzátor jsem použila měďný komplex komerčně dostupného bisoxazolinového derivátu (**Schéma 42**). Výhodou tohoto postupu je příprava esteru **30** s vynikajícím enantiomerním přebytkem v obou formách *cis* i *trans* (95–98 % *ee*) a s uspokojivým poměrem diastereoizomerů 23/77 (*cis/trans*). Tento poměr lze považovat za relativně příznivý pro termodynamicky méně stabilní *cis* formu.

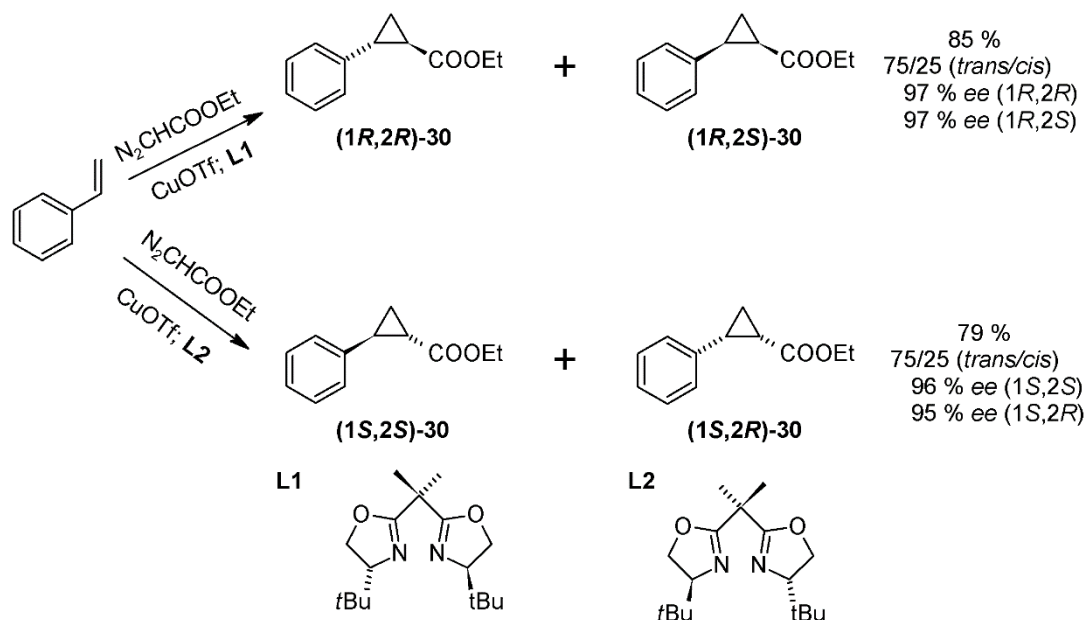


Schéma 42 Příprava opticky čistých forem esteru **30** podle Evanse^[197]

Provedením cyklopropanace podle Evansovy práce^[197] jsem estery **30** získala v enantiomerním přebytku 95–97 % *ee*, v poměru diastereoizomerů *cis/trans* 25/75 a s izolovaným výtěžkem 79–85 %. Asymetrickou cyklopropanaci jsem se pokusila provést také se separovatelnou a recyklovatelnou formou enantioselektivního katalyzátoru založeném na měďném komplexu chirálního bisoxazolinu uchyceném na Amberlite[®] IR–120. Bohužel, chemický výtěžek ani optická čistota cyklopropanových derivátů **30** připravených tímto způsobem nebyla dostačující pro další zkoumání. Jelikož jsem se v rámci své práce zabývala přípravou chirálních ligandů pro asymetrickou Henryho reakci, prozkoumala jsem také možnost využití výše

popsaného ligandu (**2R,5S**)-**8**, resp. jeho měďného a měďnatého komplexu, pro katalýzu této asymetrické cyklopropanace. Při použití měďného komplexu za podmínek převzatých z práce Evanse^[197] jsem získala ester *cis/trans*-**30** (poměr izomerů 1/3) v relativně nízkém chemickém výtěžku (52 %) a ve formě racemátu. Ani při použití měďnatého komplexu ligandu (**2R,5S**)-**8**, za podmínek, které ve své práci popsal Arai a kol. v roce 2005,^[339] se mi požadované estery **30** nepodařilo získat v opticky čisté formě. Reakce ovšem poskytovala estery **30** ve vysokém výtěžku 94 % a v poměru 1/2 (*cis/trans*).

Syntéza karbamátů připravených v rámci mé DP^[334] vycházela z racemátu *trans* kyseliny (\pm)-**34**, která byla podrobena reakci s thionylchloridem a následně azidem sodným. Jak chlorid kyseliny (\pm)-**34**, tak následně i isokyanát byl izolován a v dalším kroku byl použit pro reakci se sekundárními alkoholy (\pm)-**39–41**. Alternativně, isokyanát byl hydrolyzován na příslušný amin a ten byl reakcí s vybranými chlorformiáty za přítomnosti TEA převeden na karbamáty **44–46**.^[334] Tuto tří- resp. čtyřkrokovou syntézu jsem v rámci své disertační práce nahradila jiným postupem. Karbamáty **39–54** jsem připravila jedнокrokovou syntézou spočívající v reakci difenylfosforylazidu (DPPA) s kyselinou **34** za přítomnosti TEA a příslušného alkoholu (**Schéma 41**).^[340] Tato „one pot“ reakce zahrnovala nejprve vznik acylazidu, který následně vlivem vysoké teploty 80 °C podléhal Curtiovu odbourávání na isokyanát. Ten ihned reagoval s přítomným alkoholem za vzniku příslušného karbamátu **39–54**. Reakce jsem provedla v bezvodém prostředí, vzhledem k přítomnosti isokyanátu jako meziproductu. Pro přípravu karbamátů (\pm)-**39–43** jsem jako rozpouštědlo zvolila odpovídající alkohol, a to vzhledem k možnosti odstranění přebytečného alkoholu destilací (**Metoda A**). Karbamáty **44–54** odvozené z vyšších alkoholů jsem připravila v toluenu **44–49** nebo 1,4-dioxanu **50–54** obsahujícím mírný nadbytek příslušného alkoholu (1,2 ekv.) (**Metoda B**). Výtěžky této reakce (zahrnující několik chemických transformací) se pohybovaly v rozmezí 40–80 % v závislosti na použitém alkoholu.

Takto připravená série karbamátů obsahovala také tři zástupce odvozené od derivátů monosacharidů (acetaly monosacharidů a acetonu) 1,2:3,4-diisopropyliden-D-galaktopyranosy **51**, 1,2:5,6-diisopropyliden-D-glukofuranosy **52** a cyklického alditolu (1,2:5,6-diisopropyliden-3-methyl-*chiro*-inositolu **53**). Z těchto derivátů jsem připravila také jejich ochráněné formy **64–66**. Pro přípravu těchto karbamátů mě inspiroval fakt, že sloučeniny s volnými hydroxyskupinami jsou schopny prostupovat

přes hemato-encefalickou bariéru aktivním způsobem. Konkrétně využívají glukosových transportérů (rodina proteinů GLUT), což jsou membránové přenašeče usnadňující vstup polyolů.^[341] Snadnější vstup bariérou by tak vedl ke zvýšení koncentrace aktivní látky v intercelulárním prostoru CNS. Karbamáty **64–66** jsem ochránila působením vodné TFA (1/1).^[275] Obě isopropylové skupiny byly odstraněny již po 3 h při laboratorní teplotě, aniž by došlo k hydrolyze karbamátové funkční skupiny (Schéma 43). Jiné reakční podmínky (1% TFA v methanolu, 10 h, zahřev k varu) vedly pouze k částečnému ochránění, kdy jako produkt pravděpodobně převládal 1,2-monochráněný derivát.

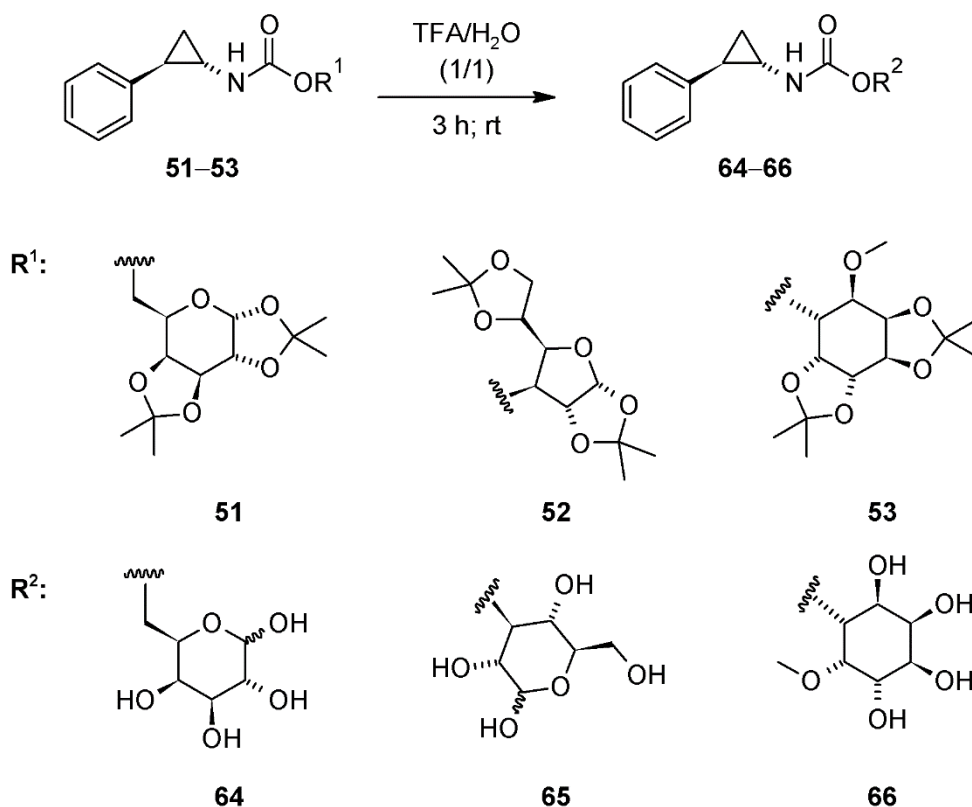


Schéma 43 Deacetalace chráněných monosacharidických karbamátů **51–53**
působením vodné TFA

4.5.2 Biologické *in vitro* studie karbamátů **39–54** a **64–66**

4.5.2.1 Lipofilita karbamátů **39–54** a **64–66**

Mnoho léčiv prochází biologickými membránami pomocí pasivního transportu, který silně závisí na jejich lipofilitě. Nezbytnou podmínkou pro použití studovaných sloučenin jako potenciálních inhibitorů ChEs je schopnost těchto látek procházet hemato-encefalickou bariérou. Pro stanovení této schopnosti lze využít

hodnotu rozdělovacího koeficientu P v systému n -oktanol:voda (obvykle vyjadřována jako P_{ow} nebo $\log P_{ow}$).^[342,343] Experimentálně jsem sledovala rozdělení molekul mezi dvě nemísitelné kapaliny (voda a n -oktanol) a hodnota P_{ow} se stanovila jako poměr koncentrací studovaných látek v n -oktanolu a vodě. Rozdělovací koeficient slouží jako kvantitativní ukazatel lipofility a je jedním z klíčových ukazatelů farmakokinetických vlastností léčiv. Podle Lipinskiho pravidla pěti, by lipofilita vyjádřená $\log P_{ow}$ neměla přesahovat hodnotu 5.^[344]

Výsledky, které jsem získala ze stanovení lipofility standardní protřepávací metodou jsou uvedeny v **Tab. 4**. Všechny studované sloučeniny byly rozděleny do dvou skupin: *Skupina 1* zahrnovala sloučeniny **39–50** (R: 12 alkylových skupin) a *Skupina 2* zahrnovala sloučeniny **51–54** (R: 4 glykosylové skupiny). Téměř všechny karbamáty ve *Skupině 1* splňovaly podmínky Lipinskiho pravidla pěti s výjimkou karbamátu (\pm)-**41** (R = *i*Bu) s $\log P_{ow} = 6,63$. Nejnižší hodnota rozdělovacího koeficientu byla nalezena u karbamátu (\pm)-**42**. Nepozorovala jsem žádný trend ve zvyšování nebo snižování hodnoty $\log P_{ow}$ vlivem rostoucího alkylového řetězce. Karbamáty ze *Skupiny 2*, které obsahovaly chránící isopropylidenové uskupení **51–54**, vykazovaly vyšší lipofilitu, než příslušné deriváty získané po deprotekcii **64–66**.

4.5.2.2 Studie inhibiční aktivity karbamátů **39–54** a **64–66** vůči ChEs

Schopnost všech karbamátů inhibovat AChE (z elektrického úhoře) a BChE (z koňského séra) jsem stanovila použitím *in vitro* Ellmanovy metody. Získané výsledky jsou uvedeny v **Tab. 4**. Na základě těchto výsledků je zřejmé, že všechny karbamáty ze *Skupiny 1* vykazovaly střední inhibiční aktivitu vůči oběma ChEs. Obecně lze konstatovat, že karbamáty **39–50** vykazovaly vyšší selektivitu vůči BChE. Hodnoty IC_{50} pro inhibici AChE se pohybovaly v rozmezí 36,07–77,63 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a nejúčinnějším inhibitorem byl derivát (\pm)-**50** (R = geranyl), nejméně účinným inhibitorem byl karbamát (\pm)-**43** (R = *s*Bu). Hodnoty IC_{50} pro inhibici BChE (9,05–47,45 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) jsou pro všechny sloučeniny nižší než pro AChE. Nejúčinnějším inhibitorem BChE byla látka **45** (R = menthyl) s hodnotou $IC_{50} = 9,05 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Všechny karbamáty ze *Skupiny 2* **51–54** a **64–66** vykazovaly také střední inhibiční aktivitu vůči AChE a dokonce i vyšší selektivitu pro tento enzym. Hodnoty IC_{50} pro inhibici AChE se pohybovaly v rozmezí 36,76–94,39 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a pro BChE v rozmezí 5,80–152,46 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Nejlepší inhibiční aktivitu vůči AChE měl chráněný derivát fruktopyranosy **54** (36,76 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), ale v porovnání s dalšími monosacharidovými

deriváty **51–53** vykazoval výrazně nižší inhibiční aktivitu vůči BChE ($120,6 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$). Inhibiční aktivitu vůči BChE pro karbamáty **64** a **66** nebylo možno za daných podmínek změřit. Výjimku ve *Skupině 2* představovaly karbamáty odvozené od chráněné galaktopyranosy **51** (odvozený z racemátu *trans* formy (\pm)-**34**) a opticky čistého *trans* derivátu (**1S,2R**)-**51**. Právě tyto karbamáty se ukázaly jako nejučinnější inhibitory BChE vůbec. Všechny karbamáty, odvozené od chráněné galaktopyranosy **51**, vykazovaly nejvyšší selektivitu k BChE. Zajímavostí je fakt, že „racemický“ *trans* derivát **51** nevykazoval významně nižší inhibiční aktivitu než derivát (**1S,2R**)-**51**, vzhledem k nižší inhibiční aktivitě (**1R,2S**)-**51**. Inhibiční aktivita **51** je srovnatelná s inhibiční aktivitou opticky čistého derivátu (**1S,2R**)-**51**. Z těchto výsledků lze usuzovat, že vliv absolutní konfigurace na asymetrických centrech sloučeniny **51** (a pravděpodobně i ostatních karbamátů) na jeho inhibiční aktivitu vůči cholinesterázám je zanedbatelný.

4.5.3 4.5.2.3 *In vitro* cytotoxické studie karbamátů 39–54 a 64–66

Cytotoxické studie byly provedeny na linii buněk Jurkat, což jsou lidské T-lymfocyty akutní lymfoblastické leukemie. Všechny karbamáty byly testovány standardní kolorimetrickou metodou. Jedná se o stanovení míry redukce tetrazoliové soli XTT pomocí sledování aktivity dehydrogenázy mitochondrií v buňkách Jurkat po 48 h působení studované látky. Výsledky jsou shrnuty v **Tab. 5**.

Tab. 5 Životaschopnost buněk Jurkat po vystavení působení látek **39–54** a **64–66** o různých koncentracích. Životaschopnost buněk je vztažena ke kontrolnímu roztoku 0,2% DMSO.

Označení	Životaschopnost buněk (%)						
	0.2 % DMSO	5 μM	10 μM	50 μM	100 μM	250 μM	500 μM
(±)-39	100,00 ± 3,32	96,30 ± 1,22	85,77 ± 4,30	82,27 ± 5,81	69,59 ± 2,13	64,70 ± 2,82	27,26 ± 2,17
(±)-40	100,00 ± 3,64	89,76 ± 7,00	79,73 ± 2,73	64,99 ± 1,75	33,82 ± 0,66	3,70 ± 0,31	0,25 ± 0,08
(±)-41	100,00 ± 1,41	85,16 ± 10,99	83,10 ± 9,97	65,54 ± 5,90	64,76 ± 2,37	43,35 ± 1,50	3,16 ± 0,75
(±)-42	100,00 ± 8,35	94,50 ± 2,15	93,80 ± 5,50	82,93 ± 7,08	78,03 ± 8,97	68,47 ± 5,70	25,29 ± 1,44
(±)-43	100,00 ± 3,12	100,39 ± 9,28	99,39 ± 1,78	91,87 ± 5,34	77,60 ± 3,06	25,79 ± 1,93	0,68 ± 0,24
(±)-44	100,00 ± 2,42	94,82 ± 3,39	83,04 ± 0,80	62,78 ± 0,39	49,06 ± 1,39	35,83 ± 2,34	33,30 ± 1,02
45	100,00 ± 7,96	86,90 ± 2,05	82,93 ± 3,42	69,74 ± 2,01	64,58 ± 2,31	62,64 ± 5,03	62,91 ± 3,56
(±)-46	100,00 ± 3,01	80,55 ± 1,41	72,66 ± 3,01	3,42 ± 1,66	0,29 ± 0,19	0,78 ± 0,22	0,11 ± 0,05
(±)-47	100,00 ± 0,13	97,71 ± 0,67	93,52 ± 1,90	81,01 ± 1,93	40,89 ± 1,72	1,98 ± 0,30	1,20 ± 0,35
(±)-48	100,12 ± 3,27	95,94 ± 2,11	91,08 ± 3,70	88,47 ± 2,57	85,41 ± 4,38	77,03 ± 4,23	40,93 ± 4,06
(±)-49	100,18 ± 1,07	99,88 ± 1,29	98,91 ± 3,79	78,63 ± 1,87	45,74 ± 2,74	25,24 ± 0,57	8,57 ± 0,62
(±)-50	100,01 ± 1,59	99,15 ± 1,43	97,03 ± 0,94	81,56 ± 0,60	33,30 ± 3,24	4,15 ± 1,36	0,73 ± 0,23
51	100,00 ± 4,02	98,03 ± 0,55	89,45 ± 0,22	82,37 ± 1,63	79,18 ± 1,62	61,62 ± 0,37	59,70 ± 1,05
(1S,2R)-51	100,00 ± 2,52	92,89 ± 1,52	91,30 ± 2,17	89,47 ± 3,22	80,27 ± 2,47	56,88 ± 0,69	41,41 ± 0,95
(1R,2S)-51	100,00 ± 2,52	93,47 ± 1,52	93,17 ± 3,46	98,98 ± 16,46	88,75 ± 3,44	73,38 ± 3,21	44,32 ± 0,55
(1S,2S)-51	100,00 ± 4,87	75,12 ± 6,72	71,67 ± 2,78	72,73 ± 2,60	74,85 ± 0,72	76,91 ± 1,19	76,81 ± 0,70
(1R,2R)-51	100,00 ± 4,87	70,26 ± 1,13	68,41 ± 1,24	68,49 ± 4,72	63,52 ± 2,06	56,42 ± 0,02	51,34 ± 0,67
52	100,00 ± 3,63	91,09 ± 1,89	84,96 ± 0,81	80,96 ± 0,14	73,13 ± 1,46	56,86 ± 0,37	19,26 ± 0,58
53	100,00 ± 2,26	91,16 ± 4,37	88,92 ± 6,46	83,27 ± 5,19	74,95 ± 1,47	62,45 ± 1,11	28,75 ± 0,70
54	100,06 ± 5,72	99,95 ± 2,06	96,26 ± 0,63	96,46 ± 1,07	95,45 ± 0,87	91,43 ± 1,68	88,81 ± 2,28
64	100,00 ± 6,02	83,97 ± 3,26	82,78 ± 1,81	79,40 ± 1,06	77,49 ± 3,39	73,61 ± 1,19	71,36 ± 0,70
65	100,00 ± 2,32	91,50 ± 6,53	89,32 ± 2,73	89,84 ± 1,18	93,65 ± 4,38	88,30 ± 0,82	66,93 ± 0,47
66	100,00 ± 3,17	97,14 ± 7,85	90,13 ± 2,09	88,86 ± 3,76	78,99 ± 2,72	77,31 ± 2,27	67,86 ± 0,64

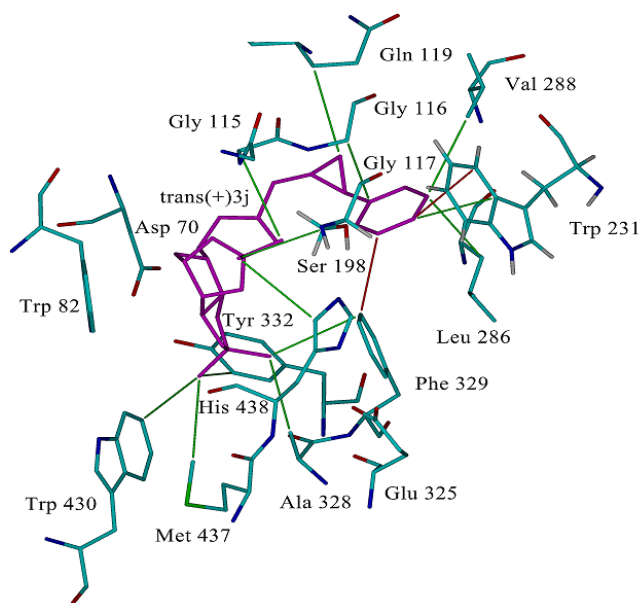
Hodnoty jsou uvedeny jako průměr se směrodatnou odchylkou ze tří nezávislých měření

Jak je patrné z Tabulky 5, většina karbamátů patřící do *Skupiny 1* vykazovala cytotoxický účinek vůči buňkám Jurkat až při koncentracích $\geq 100 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Výjimku představuje derivát **45** ($R = (-)$ -menthyl), který nevykazoval významný vliv na životaschopnost těchto buněk pro žádnou z testovaných koncentrací a derivát (\pm) -**42** ($R = t\text{Bu}$), který neovlivňoval jejich životaschopnost až do vysoké koncentrace $\geq 250 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Za zmínku stojí *O*-benzyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamát (\pm) -**48**, který vykazoval výrazně nižší cytotoxicitu v porovnání s jeho homology (\pm) -**46** resp. (\pm) -**47** ($R = 2$ -fenylpropyl resp. $R = 3$ -fenylethyl). Inhibiční aktivita těchto karbamátů je přitom téměř srovnatelná. Monoterpenický karbamát (\pm) -**50** ($R = \text{geranyl}$), jehož inhibiční účinnost vůči AChE byla nejlepší ze všech studovaných derivátů ($\text{IC}_{50} = 36,07 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), vykazoval při vyšších koncentracích relativně vysokou cytotoxicitu.

V případě *Skupiny 2* lze konstatovat, že většina glykosylových derivátů **51–54** a **64–66** nevykazovala významný cytotoxický účinek, zejména pak derivát **54** ($R = \text{PG-fruktopyranos-1-yl}$), který nevykazoval téměř žádný cytotoxický efekt na zkoumané buňky ani při nejvyšší ze studovaných koncentrací. Z této série karbamátů se jednalo o nejméně toxický derivát. Vzhledem k tomu, že tento karbamát **54** vykazuje jednu z nejlepších inhibičních aktivit vůči AChE ($\text{IC}_{50} = 36,76 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), lze jej považovat (spolu s karbamátem **(1S,2R)-51** – vzhledem k inhibici BChE) za nejlepšího kandidáta jakožto potenciálního léčiva AD, resp. nepřímého cholinergika.

Z výše uvedených výsledků biologických studií vyplývá, že inhibiční aktivita připravených derivátů **39–54** a **64–66** vůči ChEs se s *O*-substitucí dramaticky nemění, ale cytotoxicita látek je touto substitucí ovlivněna podstatně více. Obecně nižší cytotoxicitu vykazovaly deriváty nesoucí objemnou alkylovou skupinu. Příkladem mohou být látky s *O*-*terc*-butylovou, *O*-cyklohexylovou skupinou a se skupinami odvozenými od monosacharidů.

4.5.2.4 Molekulární modelování interakce karbamátu (1*S*,2*R*)-51 s BChE



Obr. 24 Molekulární modelování interakce látky (1*S*,2*R*)-51 s BChE

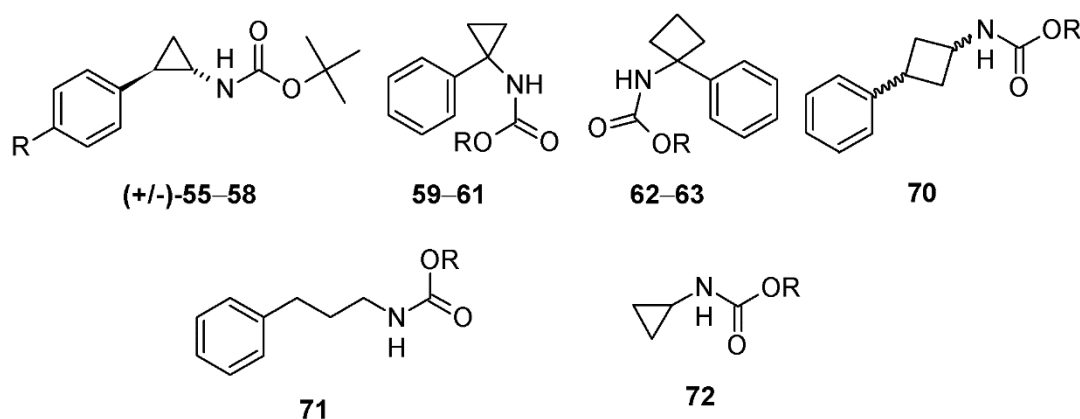
V rámci této práce bylo provedeno molekulární modelování pro karbamát (1*S*,2*R*)-51 a enzym BChE. Tato látka byla vybrána na základě hodnoty inhibiční aktivity vůči tomuto enzymu ($IC_{50} = 9,79 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), kdy vykazovala jednu z nejvyšších účinností a byla připravena v opticky čisté formě. Z obrázku (Obr. 24) je patrné, že látka (1*S*,2*R*)-51 vytváří mnoho nekovalentních interakcí, a to zejména hydrofobních. Za zásadní lze považovat interakci se serinem - Ser198, což je aminokyselina přítomná v katalytické triádě. Hydrofobní interakce vytváří například s Val288 a Leu286 – aminokyselinou acylového místa, s Gly116 a Gly117 – aminokyselinou oxoaniontového místa a Phe329 – aminokyselinou aniontového místa. U aminokyseliny Phe329 je viditelný ještě druhý typ interakce, a to π - π interakce. Všechny výše popsaná místa patří do aktivního místa BChE.

4.6 Série karbamátů 55–63 a 70–72

V další části této práce jsem se zaměřila na strukturní modifikaci^[345] *N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamátů, zejména na substituci na fenylovém jádře a na zvětšení resp. otevření cyklopropanového cyklu. Připravila jsem další sérii karbamátů odvozených od 2-(4-halogenfenyl)cyklopropan-1-aminů, 1-fenylcyklopropan-1-aminu, 3-fenylcyklobutan-1-aminu a 1-fenylcyklobutan-1-aminu. Karbamáty, substituované na fenylovém jádře v poloze 4- halogenovým atomem, jsem připravila

a studovala vzhledem k možnému vzniku nekovalentní interakce (halogenové vazby) mezi inhibitorem a proteinovou částí enzymů ChEs.^[346–353] Série rovněž zahrnovala cyklopropan-1-aminový derivát bez přítomné fenylskupiny v pozici 2- a 3-fenylpropan-1-aminový derivát (acyklický derivát 2-fenylcyklopropan-1-aminu). Přehled připravených karbamátů a výsledky inhibičních studií jsou uvedeny v **Tab. 6**.

Tab. 6 Přehled připravených karbamátů **55–63**, **70–72**, hodnoty jejich inhibiční aktivity vůči AChE a BChE IC_{50} (μM), hodnoty lipofility $\log P_{ow}$ a selektivita inhibitorů vůči jednotlivým enzymům AChE/BChE



Látka		IC_{50} (μM)		AChE/BChE selektivita	$\log P_{ow}$
Označení	R	AChE	BChE		
(±)- 55	F	44,67 ± 3,82	96,13 ± 2,81	0,46	3,02 ± 0,11
(±)- 56	Cl	78,63 ± 4,63	168,58 ± 3,40	0,47	4,27 ± 0,55
(±)- 57	Br	50,43 ± 1,09	215,39 ± 2,40	0,23	3,91 ± 0,30
(±)- 58	I	73,17 ± 4,24	89,44 ± 2,23	0,82	3,96 ± 0,18
59	<i>t</i> Bu	59,49 ± 5,29	53,33 ± 5,73	1,12	3,37 ± 0,27
60	2-Ph(CH ₂) ₂ -	84,93 ± 9,77	179,50 ± 3,86	0,47	4,20 ± 0,27
61	PG-galaktos-6-yl	54,89 ± 4,81	9,77 ± 0,32	5,60	5,48 ± 0,62
62	<i>t</i> Bu	75,45 ± 9,19	45,66 ± 0,73	1,65	3,59 ± 0,27
63	PG-galaktos-6-yl	45,00 ± 2,79	47,38 ± 0,74	0,95	3,38 ± 0,22
70	<i>t</i> Bu	41,89 ± 6,93	30,65 ± 1,44	1,36	3,25 ± 0,25
71	<i>t</i> Bu	53,18 ± 3,89	97,20 ± 0,45	0,55	3,16 ± 0,25
72	<i>t</i> Bu	44,09 ± 5,94	106,64 ± 0,36	0,41	2,07 ± 0,24
Rivastigmin ^[337]	–	56,10 ± 1,41	38,42 ± 1,97	1,46	–

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr se směrodatnou odchylkou ze dvou nezávislých měření

4.6.1 Příprava a charakterizace karbamátů 55–63 a 70–72

Všechny sloučeniny, kromě látek 70–72, jsem připravila z příslušných karboxylových kyselin metodou popsanou výše. V případě karbamátů odvozených od 1-fenylcyklopropan-1-aminu 59–61 a 1-fenylcyklobutan-1-aminu 62–63 byly výchozí karboxylové kyseliny komerčně dostupné. Při přípravě halogenovaných kyselin (\pm)-35–38 (Schéma 41) jsem vycházela z dříve popsaných postupů,^[197,287,289–291] podobně jako u derivátu 34. Kyseliny (\pm)-35–37 jsem připravila z příslušných 4-halogenstyrenů dvoukrokovou syntézou, která zahrnovala vznik cyklopropanového kruhu, a to reakcí příslušného styrenu s ethyl-diazoacetátem katalyzovanou měďnou solí. Tímto způsobem jsem získala příslušné estery 31–33 jako směs *cis* a *trans* izomerů. Více zastoupený *trans* derivát jsem izolovala dělením na sloupci silikagelu v dobrých výtěžcích (50–70 %). Následně jsem provedla hydrolyzu *trans* esterů (\pm)-31–33 v bazickém prostředí na odpovídající kyseliny (\pm)-35–37 ve vysokých výtěžcích (75–99 %). Kyselinu (\pm)-38 jsem připravila přímou jodací kyseliny (\pm)-34 v relativně dobrém 42% výtěžku.^[291] Následně jsem všechny kyseliny převedla na karbamáty 55–63 působením DPPA za přítomnosti TEA a odpovídajícího alkoholu (Schéma 44).^[51,292] Jako rozpouštědlo jsem zvolila *tert*-butyl alkohol (v případě karbamátů 55–59 a 62), pro karbamát 60 jsem zvolila toluen a pro glykosylové deriváty 61 a 63 jsem použila 1,4-dioxan. Výtěžky této reakce, včetně Curtiova odbourávání a následné reakce alkoholu s isokyanátem, se pohybovaly v rozmezí 40–86 %.

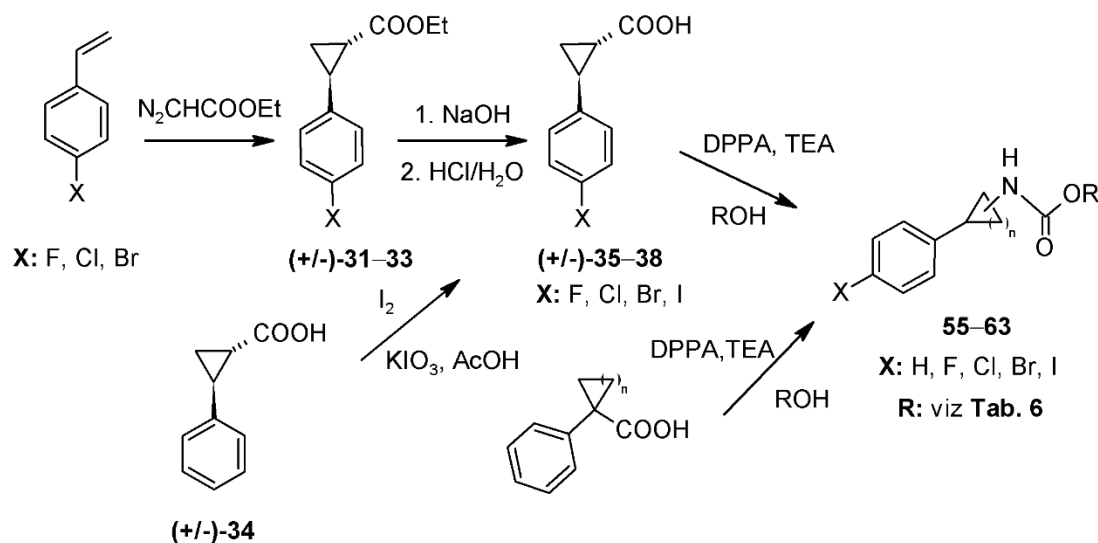


Schéma 44 Příprava karbamátů 55–63

Pro karbamáty **70–72** jsem zvolila alternativní způsob přípravy (Schéma 45). Příslušné karbamáty jsem získala reakcí di-*tert*-butyl-dikarbonátu s primárními aminy (3-fenylpropan-1-amin, cyklopropylamin resp. 3-fenylcyklobutan-1-amin (**69**)).^[298]

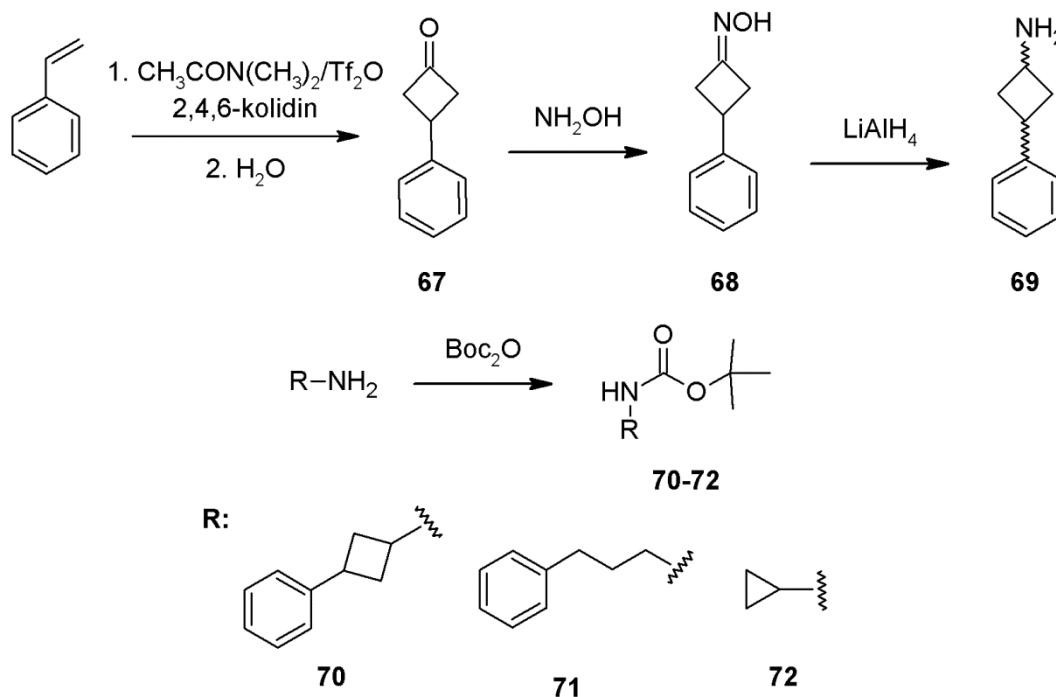


Schéma 45 Příprava karbamátů **70–72**

Sloučeninu **69** jsem připravila tříkrokovou reakční sekvencí, která zahrnovala nejprve vznik 3-fenylcyklobutanonu (**67**) (výtěžek 46 %), který vznikl [2+2] cykloadiční reakcí styrenu s keteniovou solí.^[299] Následovala transformace ketonu **67** na oxim **68**, která proběhla ve vysokém 86% výtěžku. Oxim **68** jsem v posledním kroku redukovala působením LiAlH₄ v THF, což vedlo ke vzniku požadovaného aminu **69** jako směsi *cis* a *trans* izomerů (poměr 1/2).^[300] Bohužel dělení jednotlivých stereoizomerů sloupcovou chromatografií bylo neúspěšné, a to jak v případě aminu **69**, tak i v případě následně připraveného karbamátu **70**. Pro biologické studie jsem proto použila směs obou konfiguračních izomerů **70**.

Všechny karbamáty **55–63** a **70–72** jsem charakterizovala bodem tání, ¹H a ¹³C NMR spektroskopií a hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením. V některých případech jsem zaznamenala zdvojení signálu v ¹³C NMR spektrech (např. **59** a **60**). ¹³C NMR spektra, získaná za zvýšené teploty (347 K), již obsahovala pouze jednu sadu signálů, což lze považovat za výskyt brzděné rotace kolem jednoduché vazby C–N. Čistotu látek jsem rovněž ověřila elementární analýzou.

4.6.2 Biologické *in vitro* studie karbamátů 55–63 a 70–72

4.6.2.1 Lipofilita karbamátů 55–63 a 70–72

Lipofilita připravených karbamátů 55–63 a 70–72 se pohybovala v rozmezí hodnot $\log P_{ow}$ 2,07–5,48 (**Tab. 6**). Pouze jeden derivát 61 ($\log P_{ow} = 5,48$) překročil Lipinskiho pravidlo pěti.^[344] Lze tedy konstatovat, že všechny karbamáty 55–63 a 70–72 mají adekvátní lipofilitu a mohou procházet přes hemato-encefalickou bariéru.

4.6.2.2 Studie inhibiční aktivity ChEs a *in vitro* cytotoxické studie karbamátů 55–63 a 70–72

Rovněž karbamáty 55–63 a 70–72 jsem studovala jako potenciální inhibitory AChE (z elektrického úhoře) a BChE (z koňského séra) použitím Ellmanovy metody.^[354] Výsledky jsem srovnala s předchozí sérií karbamátů 39–54 a 64–66 a používaným léčivem Rivastigminem.^[337] Z výsledků, které jsou shrnuty v **Tab. 6**, je patrné, že všechny testované karbamáty vykazují značnou inhibiční aktivitu vůči oběma ChEs. Hodnoty IC_{50} pro inhibici AChE se pohybují v rozmezí 41,9–84,9 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ a pro BChE 9,8–215,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Je zřejmé, že rozmezí hodnot IC_{50} pro BChE je významně širší než pro AChE.

Porovnáním výsledků inhibiční aktivity s předchozí sérií karbamátů 39–54 a 64–66 (**Tab. 4**) je patrné, že substituce vodíku atomem halogenu v pozici 4- na fenylovém jádře významně neovlivňuje inhibiční aktivitu vůči AChE (62,9 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro nesubstituovaný (\pm)-42 vs. 44,7–78,6 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro (\pm)-55–58). Inhibiční aktivita vůči BChE u 4-halogenderivátů klesla (21,1 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro nesubstituovaný (\pm)-42 vs. 89,4–215,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro (\pm)-55–58). Na druhou stranu, 4-halogenderiváty (\pm)-55–58 vykazovaly nižší cytotoxický účinek vůči buňkám Jurkat (**Tab. 7**).

Tab. 7 Životaschopnost buněk Jurkat po vystavení působení látek **55–63** a **70–72** o různých koncentracích. Životaschopnost buněk je vztažena ke kontrolnímu roztoku 0,2% DMSO

Označení	Životaschopnost buněk (%)						
	0.2 % DMSO	5 μ M	10 μ M	50 μ M	100 μ M	250 μ M	500 μ M
(\pm)-55	100,02 \pm 2,45	99,30 \pm 1,62	98,40 \pm 1,22	92,96 \pm 1,23	91,05 \pm 2,91	86,61 \pm 0,97	65,78 \pm 3,74
(\pm)-56	100,00 \pm 3,17	83,59 \pm 5,79	85,85 \pm 6,14	85,53 \pm 4,97	81,95 \pm 4,79	74,02 \pm 2,35	68,32 \pm 5,04
(\pm)-57	100,02 \pm 1,63	99,12 \pm 2,27	97,01 \pm 4,10	90,44 \pm 4,66	87,97 \pm 3,15	88,90 \pm 4,66	79,52 \pm 1,08
(\pm)-58	100,36 \pm 3,69	99,83 \pm 0,92	96,33 \pm 2,15	93,05 \pm 0,71	91,50 \pm 0,54	86,34 \pm 2,36	83,41 \pm 0,75
59	100,38 \pm 0,15	98,43 \pm 2,91	94,82 \pm 6,35	95,23 \pm 3,89	87,57 \pm 1,94	56,81 \pm 2,34	46,94 \pm 2,11
60	100,11 \pm 0,15	98,79 \pm 2,60	95,23 \pm 0,44	92,92 \pm 2,76	91,29 \pm 1,10	88,76 \pm 0,87	80,27 \pm 3,06
61	100,43 \pm 2,94	100,71 \pm 2,25	97,91 \pm 1,75	98,43 \pm 2,03	95,70 \pm 1,04	91,45 \pm 4,26	84,94 \pm 1,41
62	100,38 \pm 0,29	94,74 \pm 1,52	84,68 \pm 3,30	71,60 \pm 1,81	67,55 \pm 3,59	54,30 \pm 0,92	45,52 \pm 2,19
63	100,45 \pm 1,54	100,07 \pm 2,47	96,32 \pm 1,31	94,68 \pm 1,50	95,63 \pm 3,80	92,33 \pm 1,93	88,25 \pm 6,11
70	100,14 \pm 3,96	98,45 \pm 2,15	94,41 \pm 2,47	76,92 \pm 2,56	64,40 \pm 3,36	47,38 \pm 2,43	32,03 \pm 0,79
71	100,33 \pm 1,43	97,42 \pm 2,62	92,98 \pm 2,78	89,19 \pm 2,78	86,83 \pm 1,85	74,33 \pm 2,52	52,39 \pm 0,92
72	100,17 \pm 4,21	99,80 \pm 1,63	99,43 \pm 1,49	97,76 \pm 1,37	95,30 \pm 0,45	94,30 \pm 0,82	93,14 \pm 0,71

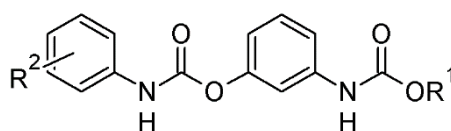
Hodnoty jsou uvedeny jako průměr se směrodatnou odchylkou ze tří nezávislých měření

Všechny *N*-(1-fenylcyklopropyl)karbamáty **59–61**, *N*-(1-fenylcyklobutyl)karbamáty **62–63** a *N*-(3-fenylcyklobutyl)karbamát **70** vykazovaly nízkou cytotoxicitu, zejména deriváty odvozené od chráněné galaktopyranosy **61** a **63**. Právě karbamát **61** vykazoval nejvyšší inhibiční aktivitu vůči BChE ($9,8 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$) a nejvýznamnější selektivitu k BChE (AChE/BChE = 5,6). S ohledem k faktu, že v průběhu AD se poměr selektivity AChE/BChE dramaticky mění v rozmezí 0,2–11,^[355] představují selektivní inhibitory BChE atraktivní kandidáty pro léčbu AD. Výhodou selektivních inhibitorů BChE je skutečnost, že je neprovází nežádoucí cholinergní efekty, které jsou typické pro inhibitory AChE.^[241,356]

Formální strukturální modifikace *O*-*tert*-butyl-*N*-(2-fenylcyklopropyl)karbamátu ((±)-**42**) na karbamát **71** (neobsahuje cyklopropanový kruh) a karbamát **72** (neobsahuje fenylové jádro) vedla k pouze nepatrným změnám v inhibiční aktivitě (zvýšení pro AChE a snížení pro BChE). Nicméně, derivát **72** by mohl být velmi zajímavou sloučeninou pro další studie s ohledem na velmi nízkou cytotoxicitu a střední inhibiční aktivitu vůči oběma ChEs.

4.7 *O*-Glykosyl-*N*-fenylkarbamáty **73–84**

V nedávné době byly na Katedře biologických a biochemických věd Univerzity Pardubice studovány inhibitory ChEs, obsahující ve své molekule dvě karbamátové funkční skupiny a zároveň halogenovou substituci na fenylovém jádře **85–96** (Obr. 25).^[357]



85–96

R¹: Me; Et; *n*Bu

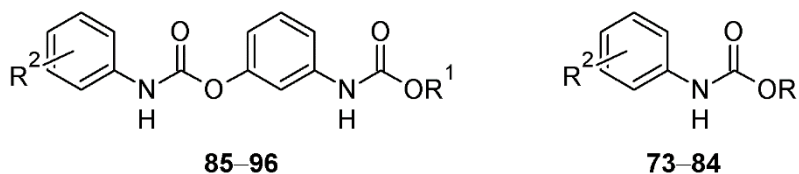
R²: H; 3-Me; 4-MeO; 4-Cl; 3,4-di(Cl)

Obr. 25 Inhibitory ChEs **85–96** obsahující dvě karbamátové funkční skupiny

Jak již bylo zmíněno výše, přítomnost halogenu v molekule může vést ke vzniku nekovalentní interakce (halogenové vazby) mezi inhibitorem a proteinovou částí enzymů ChEs.^[346–353] Mezi populární halogen-obsahující funkční skupiny v léčivech patří trifluormethyl skupina (CF₃),^[358] kterou můžeme najít v antidepresivech Prozac a Luvox, anestetiku Halothan nebo antimalariku Lariam. Vzhledem k relativně dobrým inhibičním účinkům *N*-(1- resp.

2-fenylcykloalkyl)karbamátů odvozených od monosacharidů **51–54**, **61**, **63** a **64–66**, které jsem připravila v rámci předchozích sérií, jsem se rozhodla připravit další sérii *O*-glykosyl-*N*-(3,4-dichlorfenyl)- a *O*-glykosyl-*N*-(3-(trifluormethyl)fenyl)karbamátů **73–84**. Tyto sloučeniny jsem připravila, charakterizovala a následně prověřila jejich inhibiční aktivitu vůči ChEs. Získané výsledky jsem srovnala jak se sloučeninami obsahujícími dvě karbamátové uspořádání připravenými dříve **85–96** (*První skupina*), tak s léčivy Rivastigminem a Galantaminem (**Tab. 8**).

Tab. 8 Přehled připravených karbamátů **73–84** (*Druhá skupina*), hodnoty jejich inhibiční aktivity vůči AChE a BChE IC_{50} (μM), hodnoty lipofility $\log P_{ow}$ a selektivita inhibitoru vůči jednotlivým enzymům AChE/BChE



První skupina

Druhá skupina

	Látka		IC_{50} (μM)		AChE/BChE selektivita	$\log P_{ow}$
	R ¹	R ²	AChE	BChE		
85	Me	-H	20,61 ± 0,23	15,71 ± 1,31	1,31	3,31 ± 0,29
86	Et	-H	12,85 ± 0,21	11,44 ± 0,30	1,12	3,85 ± 0,41
87	<i>n</i> Bu	-H	15,72 ± 0,21	11,21 ± 0,61	1,40	5,13 ± 0,73
88	Et	3-Me	18,26 ± 0,40	10,21 ± 0,21	1,79	4,59 ± 0,68
89	<i>n</i> Bu	3-Me	20,91 ± 1,01	12,21 ± 0,50	1,71	5,27 ± 0,44
90	Et	4-MeO	15,05 ± 0,74	11,14 ± 0,71	1,35	3,53 ± 0,22
91	<i>n</i> Bu	4-MeO	12,40 ± 1,41	12,41 ± 0,44	1,00	4,99 ± 0,50
92	Et	4-Cl	14,12 ± 0,12	22,04 ± 0,17	0,64	4,83 ± 0,52
93	<i>n</i> Bu	4-Cl	15,01 ± 0,75	14,51 ± 0,41	1,03	5,40 ± 0,63
94	Me	3,4-di(Cl)	7,73 ± 1,20	6,11 ± 0,02	1,27	4,86 ± 0,31
95	Et	3,4-di(Cl)	8,56 ± 0,21	9,61 ± 0,03	0,94	5,33 ± 0,48
96	<i>n</i> Bu	3,4-di(Cl)	9,91 ± 0,81	10,52 ± 0,04	0,89	6,32 ± 0,60
73	PG-galaktos-6-yl	3,4-di(Cl)	46,93 ± 0,26	29,41 ± 0,03	1,59	6,24 ± 0,55
74	PG-galaktos-6-yl	3-CF ₃	61,42 ± 0,78	36,68 ± 0,20	1,67	5,04 ± 0,33
75	PG-glukos-3-yl	3,4-di(Cl)	69,36 ± 1,41	> 200	–	7,33 ± 0,67
76	PG-glukos-3-yl	3-CF ₃	69,95 ± 0,94	> 200	–	5,89 ± 0,47
77	PG-fruktos-1-yl	3,4-di(Cl)	76,28 ± 2,21	35,31 ± 0,83	2,16	4,86 ± 0,37
78	PG-fruktos-1-yl	3-CF ₃	76,46 ± 0,03	40,13 ± 0,29	1,90	6,73 ± 0,52
79	Galaktos-6-yl	3,4-di(Cl)	94,25 ± 0,06	> 200	–	1,97 ± 0,13
80	Galaktos-6-yl	3-CF ₃	99,22 ± 2,16	> 200	–	2,03 ± 0,18
81	Glukos-3-yl	3,4-di(Cl)	89,11 ± 2,55	> 200	–	3,11 ± 0,34
82	Glukos-3-yl	3-CF ₃	103,40 ± 1,26	> 200	–	1,85 ± 0,14
83	Fruktos-1-yl	3,4-di(Cl)	98,04 ± 2,35	> 200	–	2,98 ± 0,42
84	Fruktos-1-yl	3-CF ₃	103,53 ± 1,03	> 200	–	2,96 ± 0,31
Rivastigmin ^[337]			56,11 ± 1,41	66,30 ± 5,30	0,85	2,21 ± 0,22
Galantamin ^[337]			1,54 ± 0,02	4,01 ± 0,02	0,38	1,63 ± 0,12

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr se směrodatnou odchylkou ze dvou nezávislých měření

4.7.1 Příprava a charakterizace karbamátů 73–84

Karbamáty **73–78** obsahují ve své struktuře chráněnou glykosylovou část. Jejich syntéza vycházela z příslušného chráněného monosacharidu, obsahujícího jedinou volnou hydroxylovou skupinu a odpovídajícího komerčně dostupného fenyloisokyanátu (Schéma 46).

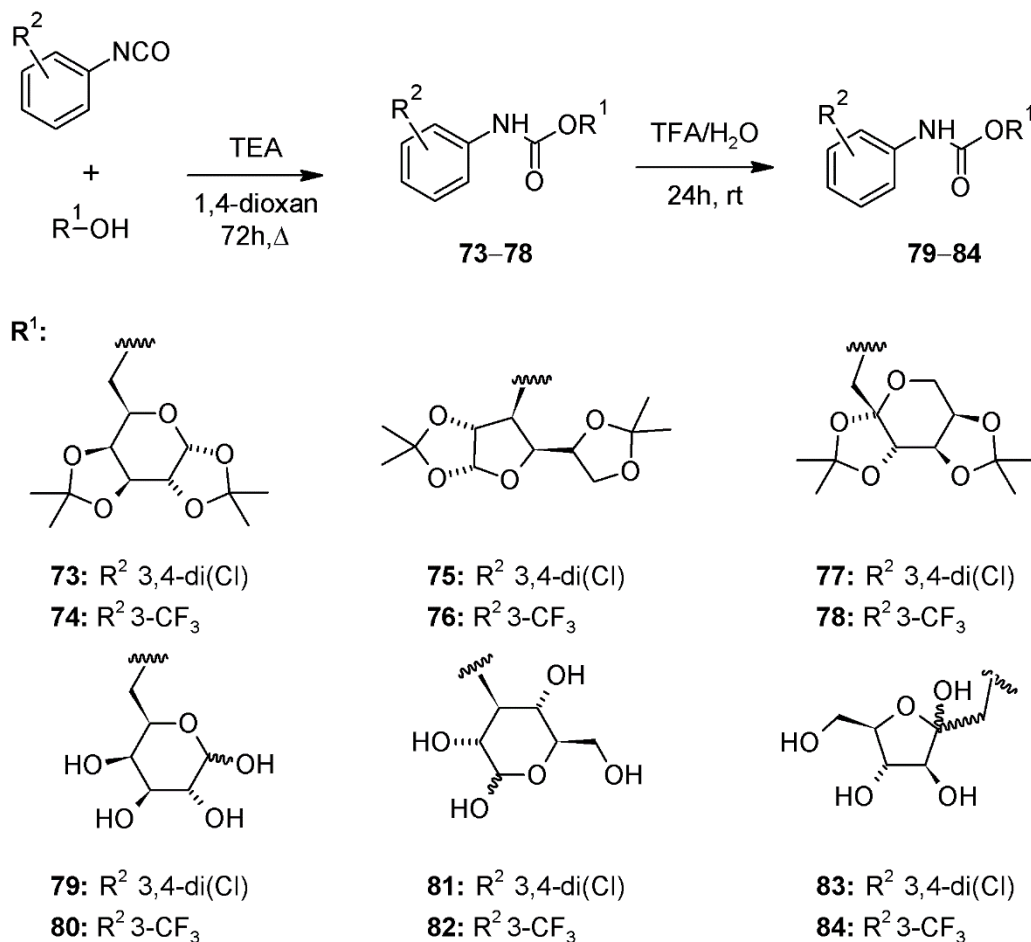


Schéma 46 Příprava glykosylových karbamátů 73–84

Tuto adiční reakci jsem provedla ve vroucím 1,4-dioxanu za přítomnosti ekvivalentního množství báze TEA. Příslušné karbamáty vznikly v relativně dobrých výtěžcích (31–67 %). Produkty jsem oddělila od nezreagovaného monosacharidu popř. isokyanátu pomocí sloupcové chromatografie. Karbamáty **79–84** jsem připravila odchráněním sloučenin **73–78** (deacetalací monosacharidické části) působením vodné TFA (v/v; 1/1).^[80] Odchránění za daných podmínek (24 h; r.t.) proběhlo s vysokou konverzí. Produkty jsem získala jako směs dvou anomerů, které se projevíly v NMR spektrech dvěma sadami signálů. Průběh odchránění jsem sledovala pomocí ¹H NMR spektroskopie, kdy docházelo ke snižování intenzity charakteristických signálů methyl

skupin, patřících chránící skupině v oblasti 1,30– 1,60 ppm. Všechny karbamáty **73–84** jsem charakterizovala bodem tání, ^1H a ^{13}C NMR spektroskopii a hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením.

4.7.2 Biologické *in vitro* studie karbamátů **73–84**

4.7.2.1 Lipofilita karbamátů **73–84**

Hodnoty rozdělovacích koeficientů jsou uvedeny v **Tab. 8**. Z testovaných karbamátů **73–84** vykazovaly optimální hodnoty pouze karbamáty **74** a **77**. Karbamáty **73**, **75**, **76** a **78** přesahovaly Lipinskiho pravidlo pěti.^[344] Karbamáty s odchráněnou glykosidickou částí **79–84** jsou dle předpokladu výrazně hydrofilnější, vykazovaly hodnoty $\log P_{ow}$ v rozmezí 1,85–3,11. Lze však u nich očekávat prostup hematoencefalickou bariérou pomocí glukosových transportérů.

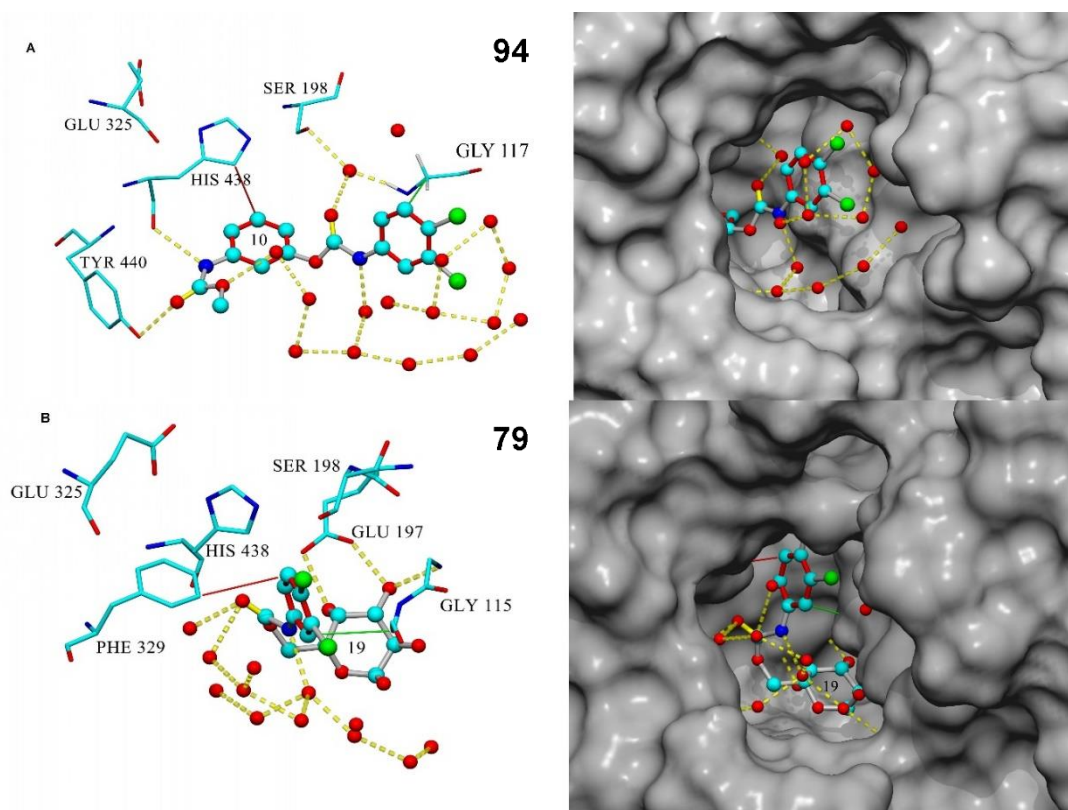
4.7.2.2 Studie inhibiční aktivity karbamátů **73–84** vůči ChEs

Stanovení inhibiční aktivity vůči ChEs pro karbamáty **73–84** jsem opět provedla standardní Ellmanovou metodou a výsledky jsou shrnuty v **Tab. 8**. Substituované *N*-fenyلكarbamáty **73–84** vykazovaly inhibiční aktivitu v širokém rozmezí pro obě ChEs a pozorovala jsem významný rozdíl v inhibiční aktivitě chráněných monosacharidických derivátů **73–78** v porovnání s jejich odchráněnými analogy **79–84**. Rozsah inhibičních koncentrací pro AChE se pohyboval v rozmezí 46,9–103,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Hodnoty IC_{50} karbamátů s chráněnou glykosylovou částí **73–78** jsou nižší než u karbamátů získaných po odchránění **79–84**. Většina karbamátů vykazovala velmi nízkou inhibiční aktivitu vůči BChE ($> 200 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$), pouze u látek **73–74** a **77–78** byly naměřeny významné hodnoty IC_{50} . V případě těchto derivátů byly hodnoty IC_{50} vůči BChE nižší než hodnoty vůči AChE. Výslednou selektivitu ($\text{AChE/BChE} = < 2$) však lze považovat za velmi nízkou. Vyhodnocením výsledků lze konstatovat, že substituce fenylového jádra v poloze 3- a 4-, atomem Cl resp. v poloze 4- skupinou CF_3 , nemá žádný vliv na inhibiční aktivitu těchto karbamátů.

Porovnáme-li inhibiční aktivitu mnou připravených karbamátů **73–84**, tak i dříve připravených dikarbamátů **85–96**, s inhibiční aktivitou zavedených léčiv Galantaminu a Rivastigminu, je zřejmé, že všechny sloučeniny **73–96** vykazovaly nižší inhibiční aktivitu vůči oběma ChEs než Galantamin. V porovnání s Rivastigminem je pak inhibiční aktivita testovaných karbamátů **85–96** vůči AChE vyšší, v případě karbamátů **73–78** srovnatelná a v případě karbamátů **79–84** nižší.

Vůči BChE vykazovaly lepší inhibiční aktivitu v porovnání s Rivastigminem pouze karbamáty **73–74** a **77–78** a dikarbamáty **85–96**. Hodnoty IC_{50} pro dikarbamáty **85–96** jsou obecně příznivější, pohybují se v rozmezí $7,7–20,9 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro AChE a $6,1–22,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ BChE. Důvodem, proč karbamáty **73–84** vykazují nízkou inhibiční aktivitu vůči ChEs, může mít souvislost s nedávno nalezeným zjištěním, že molekuly s vyšším počtem hydroxylových skupin se chovají jako tzv. PAINS (PAINS – sloučeniny se středními až slabými interakcemi s mnoha proteiny, a to díky vodíkovým vazbám, které vytváří hydroxylové skupiny).^[359] Výsledkem takové interakce je špatná enzymatická selektivita, a proto se karbamáty **73–84** chovají jako neselektivní inhibitory AChE a BChE.

4.7.2.3 Molekulární modelování interakce karbamátů **79** a **94** s BChE



Obr. 26 Molekulární modelování interakce látek **79** a **94** s BChE

V rámci této práce bylo rovněž provedeno molekulární modelování interakce mezi málo aktivním karbamátem **79** a enzymem BChE. Výsledek byl srovnán s modelováním interakce dikarbamátu **94**, který se ukázal jako nejúčinnější inhibitor obou ChEs. Sloučenina **94** je pevně zakotvena v aktivním místě BChE působením vodíkové vazby His438 a vodou zprostředkovanou vodíkovou vazbou s Ser198 (tyto aminokyseliny jsou součástí tzv. katalytické triády Ser198, Glu325 a His338). Tato

pozice je dále stabilizována π - π interakcí fenylové skupiny s His438, vodíkovou vazbou s Tyr440 a hydrofóbní interakcí s Gly117 (**Obr. 26** – vlevo **94**). Celý komplex je fixován kompaktní sítí vody přes 3,4-dichlorfenylovou část molekuly. Záměnou *O*-3-(methoxykarbonylamino)fenyl substituce (karbamát **94**) za *O*-D-galaktopyranos-6-yl (karbamát **79**) dochází k otočení celé molekuly **79** (pravděpodobně díky změně orientace lipólu – lipofilního dipólu), v porovnání s dikarbamátem **94**. Cukerná složka je stabilizována Glu197 a Gly115 a žádná voda nevytváří systematickou síť, jako tomu je v případě derivátu **94**. Také nebyla pozorována žádná interakce s aminokyselinami katalytické triády (**Obr. 26** – vlevo **79**).

5 Závěr

V rámci této disertační práce byla připravena série enantiomerně čistých 5-*terc*-butyl-2-(pyridin-2-yl)imidazolidin-4-onových ligandů **8–10**, jejichž měďnaté komplexy byly studovány jako enantioselektivní katalyzátory asymetrické Henryho reakce. Nejúčinnějším enantioselektivním katalyzátorem Henryho reakce byl měďnatý komplex ligandu **(2R,5S)-8**. Tento katalyzátor poskytoval příslušné β -nitroalkoholy s až 97% enantiomerním přebytkem. Enantioselektivita tohoto katalyzátoru je srovnatelná s nejlepšími známými enantioselektivními katalyzátory Henryho reakce. Výhodou těchto ligandů je snadná a relativně levná příprava, stabilita, použitelnost pro různé typy substrátů a možnost jejich aplikace v rozličných organických rozpouštědlech. Nejúčinnější derivát byl s úspěchem použit pro enantioselektivní přípravu derivátu β -nitroalkoholu, jakožto meziprojektu syntézy léčiva Salmeterolu.

Dále byla modifikována syntéza substituovaných 2-nitroindan-1-olů **23–25**, jako potenciálních biologicky aktivních cyklických β -nitroalkoholů. Nově byly připraveny rovněž z nich odvozené aminoderiváty **26** a **28**. V případě 2-nitroalkylbenzaldehydů **20–22** byla provedena studie intramolekulární Henryho reakce. Bylo zjištěno, že rychlost a distereoselektivita intramolekulární Henryho reakce závisí na typu použitého rozpouštědla a katalyzující báze.

V další části této disertační práce byly připraveny a charakterizovány různé série karbamátů, které byly testovány *in vitro* jako inhibitory acetylcholinesterázy (AChE) a butyrylcholinesterázy (BChE). Nejširší sérii představují karbamáty odvozené od *N*-(2-fenylcyklopropan)aminu (Tranlylcyprominu) **39–54** a **64–66**. V rámci této série bylo připraveno a charakterizováno celkem 17 nových dosud nepopsaných látek. Tyto sloučeniny vykazovaly střední inhibiční aktivitu s hodnotami IC_{50} v rozmezí 36,1–94,4 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro AChE a 5,8–152,46 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro BChE. Míra inhibice karbamátů **39–54** a **64–66** je srovnatelná s inhibiční aktivitou komerčně užívaného cholinergika Rivastigminu. Nejúčinnější karbamát **51**, který byl odvozen od chráněné galaktopyranosy, byl připraven ve formě čtyř stereoizomerů a byl studován vliv absolutní konfigurace na stereogenních centrech na inhibiční aktivitu tohoto karbamátu. Bylo zjištěno, že jednotlivé stereoizomery se svou inhibiční aktivitou liší jen nepatrně. Pro karbamáty **39–54** a **64–66** byla dále stanovena také jejich cytotoxicita.

Další série karbamátů **55–63** a **70–72**, která obsahovala celkem 9 nových sloučenin, byla formálně odvozena od série látek **39–54** a **64–66**. Byla připravena za účelem studia vlivu konkrétní změny chemické struktury inhibitoru na jeho inhibiční aktivitu a také cytotoxicitu. Strukturální změny byly provedeny jak na fenylovém jádře, tak na cyklopropanovém kruhu. Jak se ukázalo, tyto změny neměly zásadní vliv na inhibiční aktivitu těchto karbamátů, cytotoxicita se však pro jednotlivé deriváty lišila. Také tato série karbamátů vykazovala střední inhibiční aktivitu vůči oběma ChE a hodnoty IC₅₀ byly srovnatelné s léčivem Rivastigmin.

Další karbamáty **73–84** byly připraveny za účelem rozšíření série již dříve připravených sloučenin, obsahujících ve své struktuře dvě karbamátové funkční skupiny **85–96**. Cílem bylo u všech derivátů **73–96** studovat inhibiční aktivitu vůči AChE resp. BChE. Bylo zjištěno, že deriváty odvozené od monosacharidů **73–84** vykazují v porovnání s dikarbamáty **85–96** nižší inhibiční aktivitu.

Seznam publikovaných prací:

- 1) K. Vorčáková, M. Majeková, E. Horáková, P. Drabina, M. Sedlák, Š. Štěpánková, *Bioorg. Chem.* **2018**, 78, 280–289.
- 2) E. Horáková, P. Drabina, L. Brůčková, Š. Štěpánková, K. Vorčáková, M. Sedlák, *Montsh. Chem.* **2017**, 148, 2143–2153.
- 3) E. Horáková, P. Drabina, B. Brož, Š. Štěpánková, K. Vorčáková, K. Královec, R. Havelek, M. Sedlák, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2016**, 31(S3), 173–179.
- 4) P. Drabina, E. Horáková, Z. Růžičková, M. Sedlák, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, 26, 141–147.
- 5) E. Horáková, J. Valtr, K. Dostálová, P. Drabina, J. Váňa, A. Růžička, J. Hanusek, *manuskript zaslán do redakce časopisu ChemistrySelect* **2019**.

6 LITERATURA

- [1] L. Henry, *Comptes rendus Hebd. des séances l' Académie des Sci. Série B* **1895**, 120, 1265–1268.
- [2] N. Ono, *Nitro Gr. Org. Synth.*, John Wiley & Sons, Inc., **2002**.
- [3] F. A. Luzzio, *Tetrahedron* **2001**, 57, 915–945.
- [4] B. Kürti, L. Czakó, *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*, Elsevier Academic Press, Burlington, **2005**.
- [5] Y. Alvarez-Casao, E. Marques-Lopez, R. P. Herrera, *Symmetry* **2011**, 3, 220–245.
- [6] W. K. Chung, P. Chiu, *Synlett* **2005**, 55–58.
- [7] H. Sasai, Elsevier, *Comprehensive Organic Synthesis II*, Amsterdam, **2014**.
- [8] R. G. Soengas, R. C. Acúrcio, A. M. S. Silva, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 6339–6359.
- [9] A. Zulauf, M. Mellah, E. Schulz, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 2242–2245.
- [10] S. Selvakumar, D. Sivasankaran, V. K. Singh, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3156–3162.
- [11] Y. Zhou, J. Dong, F. Zhang, Y. Gong, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 588–600.
- [12] K. Lang, J. Park, S. Hong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 1620–1624.
- [13] J. U. Nef, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1894**, 280, 263–291.
- [14] R. Ballini, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 1419–1421.
- [15] J. Melton, J. E. McMurry, *J. Org. Chem.* **1975**, 40, 2138–2139.
- [16] S. E. Denmark, L. R. Marcin, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3850–3856.
- [17] H. Sasai, N. Itoh, T. Suzuki, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 855–858.
- [18] G. Rosini, R. Ballini, *Synthesis* **1988**, 833–847.
- [19] J. A. Serrano, L. E. Caceres, E. Roman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 941–942.
- [20] F. Fringuelli, M. Matteucci, O. Piermatti, F. Pizzo, M. C. Burla, *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4661–4666.
- [21] N. Mase, K. Watanabe, H. Yoda, K. Takabe, F. Tanaka, C. F. Barbas, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 4966–4967.
- [22] L.-Y. Chen, J.-R. Chen, H.-G. Cheng, L.-Q. Lu, W.-J. Xiao, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 4714–4719.
- [23] D. Lu, Y. Zhou, Y. Li, S. Yan, Y. Gong, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 8869–8878.
- [24] B. V. S. Reddy, S. M. Reddy, S. Manisha, C. Madan, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, 22, 530–535.
- [25] M. Turks, K. Vēze, G. Kiseļovs, J. Mackeviča, J. Lugiņina, A. Mishnev, D. Marković, *Carbohydr. Res.* **2014**, 391, 82–88.
- [26] M. Turks, E. Rolava, D. Stepanovs, A. Mishnev, D. Marković, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, 26, 952–960.
- [27] A. Y. Sukhorukov, A. A. Sukhanova, S. G. Zlotin, *Tetrahedron* **2016**, 72, 6191–6281.
- [28] B. M. Trost, V. S. C. Yeh, H. Ito, N. Bremeyer, *Org. Lett.* **2002**, 4, 2621–2623.
- [29] H. Sasai, T. Suzuki, N. Itoh, M. Shibasaki, *Appl. Organomet. Chem.* **1995**, 9, 421–426.
- [30] H. Sasai, Y. M.A. Yamada, T. Suzuki, M. Shibasaki, *Tetrahedron* **1994**, 50, 12313–12318.

- [31] Z.-L. Guo, Y.-Q. Deng, S. Zhong, G. Lu, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1395–1399.
- [32] D. M. L. A. Lednicer, *Org. Chem. Drug Synth.*, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1975**.
- [33] D. Uraguchi, S. Nakamura, T. Ooi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7562–7565.
- [34] K. Xu, G. Lai, Z. Zha, S. Pan, H. Chen, Z. Wang, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 12357–12362.
- [35] A. Roy, L. A. Reddy, N. Dwivedi, J. Naram, R. Swapna, G. C. Malakondaiah, M. Ravikumar, D. Bhalerao, T. B. Pratap, P. P. Reddy, et al., *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6968–6970.
- [36] I. Panov, P. Drabina, J. Hanusek, M. Sedlák, *Synlett* **2013**, *24*, 1280–1282.
- [37] D.-D. Qin, W. Yu, J.-D. Zhou, Y.-C. Zhang, Y.-P. Ruan, Z.-H. Zhou, H.-B. Chen, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 16541–16544.
- [38] S. Rossi, M. Benaglia, R. Porta, L. Cotarca, P. Maragni, M. Verzini, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2531–2537.
- [39] P. Drabina, L. Harmand, M. Sedlák, *Curr. Org. Chem.* **2014**, *11*, 879–888.
- [40] G. Murugavel, P. Sadhu, T. Punniyamurthy, *Chem. Rec.* **2016**, 1906–1917.
- [41] G. Rosini, *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon, Oxford, **1991**.
- [42] M. Shibasaki, H. Sasai, T. Arai, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 1236–1256.
- [43] C. Palomo, M. Oiarbide, A. Mielgo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5442–5444.
- [44] J. Boruwa, N. Gogoi, P. P. Saikia, N. C. Barua, *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 3315–3326.
- [45] C. Palomo, M. Oiarbide, A. Laso, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2561–2574.
- [46] G. Blay, V. Hernández-Olmos, J. Pedro, *Synlett* **2011**, 1195–1211.
- [47] S. E. Milner, T. S. Moody, A. R. Maguire, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 3059–3067.
- [48] N. Ananthi, S. Velmathi, *Indian J. Chem. Sect. B.* **2013**, *52*, 87–108.
- [49] W. H. Perkin, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1884**, *17*, 54–59.
- [50] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, **1986**.
- [51] Z. Rappoport, S. Patai, Ed., *Chem. Cyclopropyl Gr.*, John Wiley & Sons, Ltd., New York, **1987**.
- [52] A. de Meijere, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 809–826.
- [53] K. B. Wiberg, Ed., *Cyclopropyl Groups*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, **1987**.
- [54] S. R. Goudreau, A. B. Charette, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 486–488.
- [55] Z. Rappoport, S. Patai, Eds., *Chem. Cyclopropyl Gr.*, John Wiley & Sons, Ltd., New York, **1995**.
- [56] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, **1987**.
- [57] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, **1988**.
- [58] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Springer Berlin Heidelberg, Heidelberg, **1990**.
- [59] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Heidelberg, **1996**.
- [60] A. De Meijere, Ed., *Houben Weyl Carbocycl. Three Four-Membered Ring Compd.*, Thieme, Stuttgart, **1997**.
- [61] A. De Meijere, Ed., *Top. Curr. Chem.*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, **2000**.
- [62] O. G. Kulinkovich, Ed., *Cyclopropanes Org. Synth.*, John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, **2015**.
- [63] I. Marek, S. Simaan, A. Masarwa, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1982.
- [64] J. Salaun, M. S. Baird, *Curr. Med. Chem.* **1995**, *2*, 511–542.
- [65] F. Brackmann, A. de Meijere, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4493–4537.

- [66] F. Brackmann, A. de Meijere, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4538–4583.
- [67] C. J. Thibodeaux, W. Chang, H. Liu, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1681–1709.
- [68] H.-W. Liu, C. T. Walsh, Ed., *Cyclopropyl Groups*, John Wiley & Sons, Ltd., New York, **2005**.
- [69] A. Gagnon, M. Duplessis, L. Fader, *Org. Prep. Proced. Int.* **2010**, *42*, 1–69.
- [70] S. Miyamura, K. Itami, J. Yamaguchi, *Synthesis* **2017**, *49*, 1131–1149.
- [71] C. A. Edwards, *Q. Rev. Biol.* **1993**, *68*, 301.
- [72] R. Csuk, M. J. Schabel, Y. von Scholz, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 3505–3512.
- [73] J. S. Ravi Kumar, S. Roy, A. Datta, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 513–514.
- [74] X. Zhang, K. Hodgetts, S. Rachwal, H. Zhao, J. W. F. Wasley, K. Craven, R. Brodbeck, A. Kiełtyka, D. Hoffman, M. D. Bacolod, et al., *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3923–3932.
- [75] M. Högberg, P. Engelhardt, L. Vrang, H. Zhang, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 265–268.
- [76] D. K. Mohapatra, A. Datta, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 642–646.
- [77] A. B. Charette, H. Lebel, M. N. Roy, *Copp. Catalyzed Asymmetric Synth.*, WILEY-VCH Verlag GmbH, **2014**.
- [78] H. Wang, X. Zhou, Y. Mao, *Heterocycles* **2014**, *89*, 1767–1800.
- [79] D. Qian, J. Zhang, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 677–698.
- [80] E. Horáková, P. Drabina, B. Brož, Š. Štěpánková, K. Vorčáková, K. Královec, R. Havelek, M. Sedlák, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, *31*, 173–179.
- [81] H. Pellissier, A. Lattanzi, R. Dalpozzo, *Asymmetric Synth. Three-Membered Rings*, WILEY-VCH Verlag GmbH, **2017**.
- [82] A. B. Charette, A. Beauchemin, *Org. React.*, John Wiley & Sons, Ltd., New York, **2001**.
- [83] H. M. L. Davies, E. G. Antoulinakis, *Org. React.*, John Wiley & Sons, Ltd., New York, **2001**.
- [84] R. D. Little, J. R. Dawson, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2609–2612.
- [85] H. Lebel, J. F. Marcoux, C. Molinaro, A. B. Charette, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 977–1050.
- [86] M. P. Doyle, M. N. Protopopova, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 7919–7946.
- [87] W. Kirmse, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1088–1093.
- [88] M. Yu, B. L. Pagenkopf, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 321–347.
- [89] H. Pellissier, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 7041–7095.
- [90] G. Bartoli, G. Bencivenni, R. Dalpozzo, *Synthesis* **2014**, *46*, 979–1029.
- [91] D. Seebach, A. K. Beck, F. Lehr, T. Weller, E. Colvin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1981**, *20*, 397–399.
- [92] D. Seebach, A. K. Beck, T. Mukhopadhyay, E. Thomas, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 1101–1133.
- [93] H. Sasai, T. Suzuki, S. Arai, T. Arai, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4418–4420.
- [94] H. Sasai, T. Tokunaga, S. Watanabe, T. Suzuki, N. Itoh, M. Shibasaki, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7388–7389.
- [95] T. Arai, Y. M. A. Yamada, N. Yamamoto, H. Sasai, M. Shibasaki, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1368–1372.
- [96] H. Sasai, W. S. Kim, T. Suzuki, M. Shibasaki, M. Mitsuda, J. Hasegawa, T. Ohashi, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6123–6126.

- [97] K. Hara, S. ya Tosaki, V. Gnanadesikan, H. Morimoto, S. Harada, M. Sugita, N. Yamagiwa, S. Matsunaga, M. Shibasaki, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 5030–5036.
- [98] M. Shibasaki, N. Yoshikawa, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2187–2210.
- [99] T. Purkharthofer, K. Gruber, M. Gruber-Khadjawi, K. Waich, W. Skranc, D. Mink, H. Griengl, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3454–3456.
- [100] E. J. Corey, F.-Y. Zhang, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2057–2059.
- [101] Y. Sohtome, Y. Hashimoto, K. Nagasawa, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 2894–2897.
- [102] H. Ube, M. Terada, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3895–3898.
- [103] J. V Alegre-Requena, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 1801–1809.
- [104] L. Filippova, S. Antonsen, Y. Stenström, T. V. Hansen, *Tetrahedron* **2016**, *72*, 6572–6577.
- [105] M. Häring, M. M. Pérez-Madrigal, D. Kühbeck, A. Pettignano, F. Quignard, D. D. Díaz, *Molecules* **2015**, *20*, 4136–4147.
- [106] S. Hajra, B. Jana, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 4778–4781.
- [107] J. Otevreil, P. Bobal, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 8342–8358.
- [108] S. Tosaki, K. Hara, V. Gnanadesikan, H. Morimoto, S. Harada, M. Sugita, N. Yamagiwa, S. Matsunaga, M. Shibasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11776–11777.
- [109] S. Handa, K. Nagawa, Y. Sohtome, S. Matsunaga, M. Shibasaki, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3230–3233.
- [110] C. Palomo, M. Oiarbide, A. Laso, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3881–3884.
- [111] H. Huang, H. Zong, G. Bian, H. Yue, L. Song, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 9455–9464.
- [112] Y. Kogami, T. Nakajima, T. Ashizawa, S. Kezuka, T. Ikeno, T. Yamada, *Chem. Lett.* **2004**, *33*, 614–615.
- [113] J. Park, K. Lang, K. A. Abboud, S. Hong, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16484–16485.
- [114] D. Taura, S. Hioki, J. Tanabe, N. Ousaka, E. Yashima, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 4685–4689.
- [115] F. Ibrahim, N. Jaber, V. Guérineau, A. Hachem, G. Ibrahim, M. Mellah, E. Schulz, *Tetrahedron: Asymmetry* **2013**, *24*, 1395–1401.
- [116] R. Kowalczyk, P. Kwiatkowski, J. Skarzewski, J. Jurczak, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 753–756.
- [117] Z. Ma, M. Sutradhar, A. V. Gurbanov, A. M. Maharramov, R. A. Aliyeva, F. S. Aliyeva, F. N. Bahmanova, V. I. Mardanova, F. M. Chyragov, K. T. Mahmudov, *Polyhedron* **2015**, *101*, 14–22.
- [118] T. Arai, Y. Yamamoto, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1700–1703.
- [119] A. P. C. Ribeiro, Y. Y. Karabach, L. M. D. R. S. Martins, A. G. Mahmoud, M. F. C. Guedes da Silva, A. J. L. Pombeiro, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 29159–29163.
- [120] L. Filippova, Y. Stenstrom, T. V. Hansen, *Molecules* **2015**, *20*, 6224–6236.
- [121] G. Lai, F. Guo, Y. Zheng, Y. Fang, H. Song, K. Xu, S. Wang, Z. Zha, Z. Wang, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1114–1117.
- [122] D. A. Evans, D. Seidel, M. Rueping, H. W. Lam, J. T. Shaw, C. W. Downey, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12692–12693.
- [123] S. Liu, C. Wolf, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1831–1834.

- [124] K. Y. Spangler, C. Wolf, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4724–4727.
- [125] H. Xu, C. Wolf, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8026–8028.
- [126] H. Xu, C. Wolf, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12249–12252.
- [127] K. Ma, J. You, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 1863–1871.
- [128] I. Panov, P. Drabina, Z. Padělková, P. Šimůnek, M. Sedlák, *J. Org. Chem.* **2011**, *5*, 4787–4793.
- [129] T. Arai, A. Joko, K. Sato, *Synlett* **2015**, *26*, 209–214.
- [130] W. Jin, X. Li, B. Wan, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 484–491.
- [131] S. J. Canipa, A. Stute, P. O'Brien, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 7395–7403.
- [132] Z. L. Guo, S. Zhong, Y. B. Li, G. Lu, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 238–245.
- [133] L. Yao, Y. Wei, P. Wang, W. He, S. Zhang, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 9119–9124.
- [134] R. Boobalan, G.-H. Lee, C. Chen, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 2511–2520.
- [135] G. Blay, V. Hernández-Olmos, J. R. Pedro, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 468–76.
- [136] G. Blay, L. R. Domingo, V. Hernández-Olmos, J. R. Pedro, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4725–4730.
- [137] J. D. White, S. Shaw, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 6270–6273.
- [138] Y. Qiong Ji, G. Qi, Z. M. A. Judeh, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 2065–2070.
- [139] M. Rachwalski, S. Leśniak, E. Sznajder, P. Kiełbasiński, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 1547–1549.
- [140] K. Sato, S. Akai, H. Shoji, N. Sugita, S. Yoshida, Y. Nagai, K. Suzuki, Y. Nakamura, Y. Kajihara, M. Funabashi, et al., *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1234–1242.
- [141] C. Chakraborty, V. P. Vyavahare, V. G. Puranik, D. D. Dhavale, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9574–9580.
- [142] W. Chou, C. Fotsch, C. Wong, *J. Org. Chem.* **1995**, *11*, 2916–2917.
- [143] L. El Blidi, D. Crestia, E. Gallienne, C. Demuynck, J. Bolte, M. Lemaire, *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2951–2954.
- [144] J. M. Otero, J. C. Barcia, J. C. Estévez, R. J. Estévez, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 11–14.
- [145] F. Camps Bres, C. Guérard-Hélaine, V. Hélaine, C. Fernandes, I. Sánchez-Moreno, M. Traïkia, E. García-Junceda, M. Lemaire, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2015**, *114*, 50–57.
- [146] S. B. Bhorkade, K. B. Gavhane, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 2575–2578.
- [147] T. Aoyagi, T. Yamamoto, K. Kojiri, H. Morishima, M. Nagai, M. Hamada, T. Takeuchi, H. Umezawa, *J. Antibiot.* **1989**, *42*, 883–889.
- [148] S. Horii, T. Iwasa, E. Mizuta, Y. Kameda, *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 59–63.
- [149] S. Akai, M. Kojima, S. Yamauchi, T. Kohji, Y. Nakamura, Kichi Sato, *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 299–302.
- [150] A. Kamimura, Y. Nagata, A. Kadowaki, K. Uchida, H. Uno, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 11856–11861.
- [151] J. Cueva, D. Nichols, *Synthesis* **2009**, 715–720.
- [152] J. Tian, J. Zhong, Y. Li, D. Ma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 13885–13888.
- [153] F. Xue, H. Lu, L. He, W. Li, D. Zhang, X. Y. Liu, Y. Qin, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 754–764.
- [154] H. H. Baer, B. Achmatowicz, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3180–3185.

- [155] J. Schneider, E. L. Evans, R. I. Fryer, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2604–2608.
- [156] F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *3*, 211–224.
- [157] J. L. G. Ruano, V. Marcos, J. A. Suanzes, L. Marzo, J. Alemán, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 6576–6580.
- [158] G. Giorgi, F. J. Arroyo, P. López-Alvarado, J. C. Menéndez, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 5582–5589.
- [159] J. McNulty, R. Mo, *Chem. Commun.* **1998**, *3*, 933–934.
- [160] T. Weller, D. Seebach, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 935–938.
- [161] R. G. Soengas, J. C. Estévez, R. J. Estévez, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4457–4459.
- [162] H. Sasai, M. Hiroi, Y. M. A. Yamada, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6031–6034.
- [163] M. Shibasaki, H. Sasai, T. Arai, T. Iida, *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70*, 1027–1034.
- [164] H. Pellissier, *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358*, 2194–2259.
- [165] W. Li, X. Liu, Z. Mao, Q. Chen, R. Wang, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 4767–4773.
- [166] Q. Liang, J. He, B. Ni, *Tetrahedron: Asymmetry* **2014**, *25*, 1146–1149.
- [167] D. Shi, Y. Xie, H. Zhou, C. Xia, H. Huang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *51*, 1248–1251.
- [168] M. Rueping, I. Atodiresei, *Comprehensive Chirality*, Elsevier, Amsterdam, **2012**.
- [169] C. S. Evans, L. O. Davis, *Molecules* **2018**, *23*, DOI 10.3390/molecules23010033.
- [170] D. Bonne, Y. Coquerel, T. Constantieux, J. Rodriguez, *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1085–1109.
- [171] X. Yu, W. Wang, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2037–2046.
- [172] A.-N. Alba, X. Companyó, M. Viciano, R. Rios, *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1432–1474.
- [173] J.-R. Huang, M. Sohail, T. Taniguchi, K. Monde, F. Tanaka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 5853–5857.
- [174] H. Luo, X. Yan, L. Chen, Y. Li, N. Liu, G. Yin, *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 1702–1707.
- [175] T. Arai, T. Suzuki, T. Inoue, S. Kuwano, *Synlett* **2017**, *28*, 122–127.
- [176] D. A. Alonso, A. Baeza, R. Chinchilla, C. Gómez, G. Guillena, I. M. Pastor, D. J. Ramón, *Molecules* **2017**, *22*, DOI 10.3390/molecules22060895.
- [177] M. Bihani, J. C. G. Zhao, *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 534–575.
- [178] T. Chanda, J. C. G. Zhao, *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 2–79.
- [179] A. Raja, B. C. Hong, J. H. Liao, G. H. Lee, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 1760–1763.
- [180] X.-N. Ping, P.-S. Wei, X.-Q. Zhu, J.-W. Xie, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 2205–2210.
- [181] C. C. J. Loh, D. Hack, D. Enders, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 10230–10232.
- [182] C. C. J. Loh, I. Atodiresei, D. Enders, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 10822–10826.
- [183] C. C. J. Loh, P. Chauhan, D. Hack, C. Lehmann, D. Enders, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 3181–3186.
- [184] S. Mahajan, P. Chauhan, C. C. J. Loh, S. Uzungelis, G. Raabe, D. Enders, *Synthesis* **2015**, *47*, 1024–1031.
- [185] L. Möhlmann, G. H. Chang, G. Madhusudhan Reddy, C. J. Lee, W. Lin, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 688–691.
- [186] S. Wang, Z. Guo, S. Chen, Y. Jiang, F. Zhang, X. Liu, W. Chen, C. Sheng, *Chem. Eur. J.* **2017**, *24*, 62–66.

- [187] Y. Chen, X. Liu, W. Luo, L. Lin, X. Feng, *Synlett* **2017**, 28, 966–969.
- [188] H. Nozaki, S. Moriuti, H. Takaya, R. Noyori, *Tetrahedron Lett.* **1966**, 7, 5239–5244.
- [189] T. Aratani, Y. Yoneyoshi, T. Nagase, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18, 2599–2602.
- [190] T. Aratani, *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57, 1839–1844.
- [191] M. Itagaki, K. Hagiya, M. Kamitamari, K. Masumoto, K. Suenobu, Y. Yamamoto, *Tetrahedron* **2004**, 60, 7835–7843.
- [192] M. Itagaki, K. Suenobu, *Org. Process Res. Dev.* **2007**, 11, 509–518.
- [193] K. Suenobu, M. Itagaki, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 7271–7280.
- [194] J. M. Fraile, J. I. García, V. Martínez-Merino, J. A. Mayoral, L. Salvatella, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7616–7625.
- [195] G. Drudis-Sole, F. Maseras, A. Lledós, A. Vallribera, M. Moreno-Mañas, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5614–5621.
- [196] T. Rasmussen, J. F. Jensen, N. Østergaard, D. Tanner, T. Ziegler, P.-O. Norrby, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 177–184.
- [197] D. A. Evans, K. A. Woerpel, M. M. Hinman, M. M. Faul, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 726–728.
- [198] Y. Uozumi, H. Kyota, E. Kishi, K. Kitayama, T. Hayashi, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 1603–1606.
- [199] M. Itagaki, Y. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 523–525.
- [200] C. Mazet, V. Köhler, A. Pfaltz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 4888–4891.
- [201] K. Ito, T. Katsuki, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 2661–2664.
- [202] N. Mugishima, N. Kanomata, N. Akutsu, H. Kubota, *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 1898–1903.
- [203] S. Kanemasa, S. Hamura, E. Harada, H. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 7985–7988.
- [204] J. M. Brunel, O. Legrand, S. Reymond, G. Buono, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 5807–5808.
- [205] H. Fritschi, U. Leutenegger, A. Pfaltz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1986**, 25, 1005–1006.
- [206] H. Fritschi, U. Leutenegger, K. Siegmann, A. Pfaltz, W. Keller, C. Kratky, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1541–1552.
- [207] H. Fritschi, U. Leutenegger, A. Pfaltz, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1553–1565.
- [208] Z. Li, Z. Zheng, H. Chen, *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, 11, 1157–1163.
- [209] Z. Li, G. Liu, Z. Zheng, H. Chen, *Tetrahedron* **2000**, 56, 7187–7191.
- [210] Z. Li, Z. Zheng, B. Wan, H. Chen, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2001**, 165, 67–71.
- [211] D. S. Masterson, C. Shirley, D. T. Glatzhofer, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2012**, 361–362, 111–115.
- [212] G. Mloston, P. Mucha, H. Heimgartner, *Lett. Org. Chem.* **2012**, 9, 89–91.
- [213] J. Gao, S. H. Zhong, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2003**, 191, 23–27.
- [214] R. Rios, J. Liang, M. M.-C. Lo, G. C. Fu, *Chem. Commun.* **2000**, 377–378.
- [215] J. A. Ma, L. X. Wang, W. Zhang, Q. L. Zhou, *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 2801–2804.
- [216] A. B. Charette, J. Bouchard, *Can. J. Chem.* **2005**, 83, 533–542.
- [217] R. P. Wurz, A. B. Charette, *Org. Lett.* **2003**, 5, 2327–2329.
- [218] B. Moreau, A. B. Charette, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 18014–18015.
- [219] B. Moreau, D. Alberico, V. N. G. Lindsay, A. B. Charette, *Tetrahedron* **2012**, 68, 3487–3496.

- [220] C. Deng, L.-J. Wang, J. Zhu, Y. Tang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11620–11623.
- [221] H. H. Dale, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1914**, *6*, 147 LP-190.
- [222] O. Loewi, *I Mitteilung Pflugers Arch* **1921**, *189*, 239–242.
- [223] A. Contestabile, *Behav. Brain Res.* **2011**, *221*, 334–340.
- [224] R. T. Bartus, R. L. Dean, B. Beer, A. S. Lippa, *Science* **1982**, *217*, 408–417.
- [225] I. Wessler, C. J. Kirkpatrick, *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *154*, 1558–1571.
- [226] M. B. Colovic, D. Z. Krstic, T. D. Lazarevic-Pasti, A. M. Bondzic, V. M. Vasic, *Curr. Neuropharmacol.* **2013**, *11*, 315–335.
- [227] M. Agrawal, A. Biswas, *Front. Mol. Biosci.* **2015**, *2*, 1–10.
- [228] D. H. Small, R. Cappai, *J. Neurochem.* **2006**, *99*, 708–710.
- [229] M. Pohanka, *Biomed. Pap.* **2011**, *155*, 219–230.
- [230] M. Nardini, B. W. Dijkstra, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 732–737.
- [231] Y. Miao, N. He, J.-J. Zhu, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 5216–5234.
- [232] Š. Štěpánková, K. Vorčáková, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, *31*, 180–193.
- [233] O. Lockridge, R. B. Norgren, R. C. Johnson, T. A. Blake, *Chem. Res. Toxicol.* **2016**, *29*, 1381–1392.
- [234] Š. Štěpánková, K. Komers, *Curr. Enzym. Inhib.* **2008**, *4*, 160–171.
- [235] J. L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* **1991**, *253*, 872 LP-879.
- [236] D. C. Vellom, Z. Radić, Y. Li, N. A. Pickering, S. Camp, P. Taylor, *Biochemistry* **1993**, *32*, 12–17.
- [237] E. Giacobini, *Drugs Aging* **2001**, *18*, 891–898.
- [238] J. Massoulié, J. Sussman, S. Bon, I. Silman, *Prog. Brain Res.* **1993**, *98*, 139–146.
- [239] I. Silman, J. L. Sussman, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2005**, *5*, 293–302.
- [240] G. Kryger, M. Harel, K. Giles, L. Toker, B. Velan, A. Lazar, C. Kronman, D. Barak, N. Ariel, A. Shafferman, et al., *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2000**, *56*, 1385–1394.
- [241] E. Giacobini, *Pharmacol. Res.* **2004**, *50*, 433–440.
- [242] N. H. Greig, T. Utsuki, Q. Yu, X. Zhu, H. W. Holloway, T. Perry, B. Lee, D. K. Ingram, D. K. Lahiri, *Curr. Med. Res. Opin.* **2001**, *17*, 159–165.
- [243] E. Groner, Y. Ashani, D. Schorer-Apelbaum, J. Sterling, Y. Herzig, M. Weinstock, *Mol. Pharmacol.* **2007**, *71*, 1610–1617.
- [244] C. Mattes, R. Bradley, E. Slaughter, S. Browne, *Life Sci.* **1996**, *58*, PL257-PL261.
- [245] H. Soreq, *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2*, 294–302.
- [246] Y. Nicolet, O. Lockridge, P. Masson, J. C. Fontecilla-Camps, F. Nachon, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 41141–41147.
- [247] N. Aurbek, H. Thiermann, F. Eyer, P. Eyer, F. Worek, *Toxicology* **2009**, *259*, 133–139.
- [248] Z. Kovarik, M. Katalinić, G. Šinko, J. Binder, O. Holas, Y.-S. Jung, L. Musilova, D. Jun, K. Kuča, *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *187*, 167–171.
- [249] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, Viktoria Publishing, Praha, **1995**.
- [250] Z. Vodrážka, P. Rauch, J. Káš, *Enzymologie*, VŠCHT, Praha, **1998**.

- [251] P. Camps, D. Muñoz-Torrero, *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 11–25.
- [252] F. Amenta, L. Parnetti, V. Gallai, A. Wallin, *Mech. Ageing Dev.* **2001**, *122*, 2025–2040.
- [253] L. C. Lu, J. Bludau, *Alzheimer's Disease*, Greenwood Publishing Group, Santa Barbara, **2011**.
- [254] C. Ballard, S. Gauthier, A. Corbett, C. Brayne, D. Aarsland, E. Jones, *Lancet* **2011**, *377*, 1019–1031.
- [255] T. Amemori, P. Jendelova, J. Ruzicka, L. Machova Urdzikova, E. Sykova, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 26417–26451.
- [256] Z.-Q. Sun, L.-X. Tu, F.-J. Zhuo, S.-X. Liu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 747–750.
- [257] Alzheimer's Association, *Alzheimers. Dement.* **2015**, *11*, 332–84.
- [258] P. J. Fox, E. Susan, S. L. Tobin, *Genetic Testing* **1999**, *3*, 13–19.
- [259] M. Mesulam, A. Guillozet, P. Shaw, B. Quinn, *Neurobiol. Dis.* **2002**, *9*, 88–93.
- [260] C. G. Ballard, *Eur. Neurol.* **2002**, *47*, 64–70.
- [261] G. Mushtaq, N. H. Greig, J. A. K. and M. A. Kamal, *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* **2014**, *13*, 1432–1439.
- [262] M. L. Onor, E. Aguglia, *Clin. Interv. Aging.* **2007**, *2*, 17–32.
- [263] R. Cacabelos, *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2007**, *3*, 303–333.
- [264] H. Hampel, K. Buerger, R. Zinkowski, et al, *Arch. Gen. Psychiatry* **2004**, *61*, 95–102.
- [265] M. W. Jann, *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **2000**, *20*, 1–12.
- [266] P. Anand, B. Singh, *Arch. Pharm. Res.* **2013**, *36*, 375–399.
- [267] J. Liu, T. Ng, Z. Rui, O. Ad, W. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 136–139.
- [268] J. B. Andersen, A. T. Heldal, A. Engeland, N. E. Gilhus, *Acta Neurol. Scand. Suppl.* **2014**, *129*, 26–31.
- [269] R. Heinig, D. Zimmer, S. Yeh, G. J. Krol, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **2000**, *741*, 257–269.
- [270] B. I. and E. Haen, *Curr. Pharm. Des.* **2004**, *10*, 231–251.
- [271] M. Pohanka, K. Kuča, D. Jun, *J. Appl. Biomed.* **2008**, 27–30.
- [272] S. Ou, K. C. Kwok, Y. Wang, H. Bao, *Food Chem.* **2004**, *88*, 317–320.
- [273] G. Šinko, M. Čalić, A. Bosak, Z. Kovarik, *Anal. Biochem.* **2007**, *370*, 223–227.
- [274] T. Wille, H. Thiermann, F. Worek, *Toxicol. Mech. Methods* **2011**, *21*, 533–537.
- [275] Shakeel-u-Rehman, K. A. Bhat, S. H. Lone, F. A. Malik, *Arab. J. Chem.* **2015**, DOI <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.10.009>.
- [276] K. Jenišťová, *Bakalářská Práce*, Univerzita Pardubice, **2012**.
- [277] J. Valtr, *Diplomová Práce*, Univerzita Pardubice, **2016**.
- [278] K. Dostálová, *Bakalářská Práce*, Univerzita Pardubice, **2017**.
- [279] M. Chen, N. Sun, Y. Liu, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5574–5577.
- [280] R. V. Heinselman, M. Tishler, H. L. Slates, *Org. Synth.* **1955**, *35*, 74.
- [281] D. N. ROBERTSON, *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 47–49.
- [282] A. K. Sinhababu, R. T. Borchardt, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 227–230.
- [283] M. Sedlák, P. Drabina, E. Bílková, P. Šimůnek, V. Buchta, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2952–2956.

- [284] H. Maheswaran, K. L. Prasanth, G. G. Krishna, K. Ravikumar, B. Sridhar, M. L. Kantam, *Chem. Commun.* **2006**, 4066–4068.
- [285] K. Kanagaraj, P. Suresh, K. Pitchumani, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 4070–4073.
- [286] A. Burger, W. L. Yost, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 2198–2201.
- [287] Y. Chen, X. P. Zhang, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5931–5934.
- [288] K. Cheng, Y. S. Lee, R. B. Rothman, C. M. Dersch, R. W. Bittman, A. E. Jacobson, K. C. Rice, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 957–969.
- [289] J. M. Concellón, H. Rodríguez-Solla, C. Simal, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2685–2688.
- [290] Y. S. Gee, N. J. M. Goertz, M. G. Gardiner, C. J. T. Hyland, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2498–2503.
- [291] E. Christiansen, C. Urban, M. Grundmann, M. E. Due-Hansen, E. Hagesaether, J. Schmidt, L. Pardo, S. Ullrich, E. Kostenis, M. Kassack, et al., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 6691–6703.
- [292] R. E. Tedeschi, **1961**, US2997422.
- [293] C. Kaiser, B. M. Lester, C. L. Zirkle, A. Burger, C. S. Davis, T. J. Delia, L. Zirngibl, *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, *5*, 1243–1265.
- [294] H. Benelkebir, C. Hodgkinson, P. J. Duriez, A. L. Hayden, R. A. Bulleid, S. J. Crabb, G. Packham, A. Ganesan, *Bioorganic Med. Chem.* **2011**, *19*, 3709–3716.
- [295] R. P. Wurz, A. B. Charette, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1262–1269.
- [296] P. Vianello, O. A. Botrugno, A. Cappa, R. Dal Zuffo, P. Dessanti, A. Mai, B. Marrocco, A. Mattevi, G. Meroni, S. Minucci, et al., *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 1501–1517.
- [297] C. C. Woodroffe, B. Zhong, X. Lu, R. B. Silverman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2000**, 55–59.
- [298] A. J. Bridges, J. P. Sanchez, *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27*, 1527–1536.
- [299] A. V. Chernykh, D. S. Radchenko, A. V. Chernykh, I. S. Kondratov, N. A. Tolmachova, O. P. Datsenko, M. A. Kurkunov, S. X. Zozulya, Y. P. Kheylik, K. Bartels, et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 6466–6471.
- [300] L. E. Burgess, **2009**, WO2009158426.
- [301] G. C. Tsui, F. Menard, M. Lautens, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2456–2459.
- [302] J. Ž. árová Karasová, K. Kuča, D. Jun, J. Bajgar, *Chem. List.* **2010**, *104*, 46–50.
- [303] J. Sangster, *J. Phys. Chem.* **1989**, *18*, 1111–1227.
- [304] T. P. Jerussi, **1997**, WO9913867.
- [305] A. Rouf, P. Gupta, M. A. Aga, B. Kumar, R. Parshad, S. C. Taneja, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 2134–2143.
- [306] J. Chlebek, Z. Novák, D. Kassemová, M. Šafratová, J. Kostelník, L. Malý, M. Ločárek, L. Opletal, A. Hošťálková, M. Hrabínová, et al., *Chem. Biodivers.* **2016**, *13*, 91–99.
- [307] R. A. Smith, Z. Fathi, F. Achebe, C. Akuche, S.-E. Brown, S. Choi, J. Fan, S. Jenkins, H. C. E. Kluender, A. Konkar, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2706–2711.
- [308] J. Staessen, H. Kesteloot, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1981**, *19*, 167–172.
- [309] P. Drabina, E. Horáková, Z. Růžičková, M. Sedlák, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 141–147.

- [310] P. Drabina, S. Karel, I. Panov, M. Sedlák, *Tetrahedron: Asymmetry* **2013**, *24*, 334–339.
- [311] H. Shimizu, J. C. Holder, B. M. Stoltz, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 1637–1642.
- [312] T. Johnson, M. Lautens, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4043–4045.
- [313] D. Obrecht, C. Spiegler, P. Schönholzer, K. Müller, H. Heimgartner, F. Stierli, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 1666–1696.
- [314] C. Cativiela, M. D. Díaz-de-Villegas, *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 3517–3599.
- [315] L. M. Harwood, K. J. Vines, M. G. B. Drew, *Synlett* **1996**, 1051–1053.
- [316] F. A. Davis, S. Lee, H. Zhang, D. L. Fanelli, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8704–8708.
- [317] P. Drabina, M. Sedlák, *Arkivoc* **2012**, 152–172.
- [318] M. Sedlák, R. Keder, P. Skála, J. Hanusek, *J. Phys. Org. Chem.* **2005**, *18*, 743–750.
- [319] S. K. Ginotra, V. K. Singh, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3932–3937.
- [320] W. E. Rosen, L. Dorfman, M. P. Linfield, *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 1723–1729.
- [321] C. F. Huebner, E. M. Donoghue, C. J. Novak, L. Dorfman, E. Wenkert, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 1149–1154.
- [322] A. Mitrochkine, G. Gil, M. Réglie, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1535–1538.
- [323] I. C. Chiu, H. Kohn, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2857–2866.
- [324] M. Eigen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1964**, *3*, 1–19.
- [325] I. Kaljurand, A. Kütt, L. Sooväli, T. Rodima, V. Mäemets, I. Leito, I. A. Koppel, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1019–1028.
- [326] K. T. Leffek, P. Pruszyński, K. Thanapaalasingham, *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 590–595.
- [327] P. Chiu, Z. Li, K. C. M. Fung, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 455–457.
- [328] O. Chuzel, J. Deschamp, C. Chausteur, O. Riant, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5943–5946.
- [329] D. Zhao, K. Oisaki, M. Kanai, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 1403–1407.
- [330] H. W. Lam, P. M. Joensuu, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4225–4228.
- [331] C. Czekelius, E. M. Carreira, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4575–4577.
- [332] C. Czekelius, E. M. Carreira, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4941–4943.
- [333] B. C. Ranu, R. Chakraborty, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 5317–5322.
- [334] E. Horáková, *Diplomová Práce*, Univerzita Pardubice, **2014**.
- [335] F. Gnad, O. Reiser, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 1603–1624.
- [336] A. K. Ghosh, M. Brindisi, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 2895–2940.
- [337] M. Krátký, Š. Štěpánková, K. Vorčáková, L. Navrátilová, F. Trejtnar, J. Stolaříková, J. Vinšová, *Bioorg. Chem.* **2017**, *71*, 244–256.
- [338] J. H. Simpson, J. Godfrey, R. Fox, A. Kotnis, D. Kacsur, J. Hamm, M. Totelben, V. Rosso, R. Mueller, E. Delaney, et al., *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 3569–3574.
- [339] T. Arai, T. Mizukami, N. Yokoyama, D. Nakazato, A. Yanagisawa, *Synlett* **2005**, 2670–2672.
- [340] T.-Y. Tsai, T. Hsu, C.-T. Chen, J.-H. Cheng, T.-K. Yeh, X. Chen, C.-Y. Huang, C.-N. Chang, K.-C. Yeh, S.-H. Hsieh, et al., *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2388–2399.
- [341] H.-G. Joost, B. Thorens, *Mol. Membr. Biol.* **2001**, *18*, 247–256.
- [342] A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525–616.
- [343] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3–

- 26.
- [344] C. A. Lipinski, *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, *1*, 337–341.
- [345] E. Horáková, P. Drabina, L. Brůčková, Š. Štěpánková, K. Vorčáková, M. Sedlák, *Monatshefte für Chemie - Chem. Mon.* **2017**, *148*, 2143–2153.
- [346] L. A. Hardegger, B. Kuhn, B. Spinnler, L. Anselm, R. Ecabert, M. Stihle, B. Gsell, R. Thoma, J. Diez, J. Benz, et al., *Chem. Med. Chem.* **2011**, *6*, 2048–2054.
- [347] P. Zhou, J. H. and F. Tian, *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 226–238.
- [348] R. Wilcken, M. O. Zimmermann, A. Lange, S. Zahn, F. M. Boeckler, *J. Comput. Aided. Mol. Des.* **2012**, *26*, 935–945.
- [349] R. Wilcken, M. O. Zimmermann, A. Lange, A. C. Joerger, F. M. Boeckler, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 1363–1388.
- [350] Z. Xu, Z. Yang, Y. Liu, Y. Lu, K. Chen, W. Zhu, *J. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 69–78.
- [351] E. Persch, O. Dumele, F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3290–3327.
- [352] G. Cavallo, P. Metrangolo, R. Milani, T. Pilati, A. Priimagi, G. Resnati, G. Terraneo, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2478–2601.
- [353] S. Jiang, L. Zhang, D. Cui, Z. Yao, B. Gao, J. Lin, D. Wei, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 34750.
- [354] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, R. M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* **1961**, *7*, 88–95.
- [355] N. H. Greig, T. Utsuki, D. K. Ingram, Y. Wang, G. Pepeu, C. Scali, Q.-S. Yu, J. Mamczarz, H. W. Holloway, T. Giordano, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102*, 17213–17218.
- [356] B. Brus, U. Košak, S. Turk, A. Pišlar, N. Coquelle, J. Kos, J. Stojan, J.-P. Colletier, S. Gobec, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8167–8179.
- [357] K. Vorčáková, M. Májeková, E. Horáková, P. Drabina, M. Sedlák, Š. Štěpánková, *Bioorg. Chem.* **2018**, *78*, 280–289.
- [358] H. G. Bonacorso, A. Ketzer, F. D. Garcia, W. C. Rosa, T. P. Calheiro, S. C. Feitosa, G. M. Dal Forno, N. Zanatta, M. A. P. Martins, C. P. Frizzo, *J. Fluor. Chem.* **2017**, *197*, 6–14.
- [359] J. B. Baell, J. W. M. Nissink, *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 36–44.

7 Přílohy

Tabulky k ^1H NMR kinetickým studiím cyklizace látek **20–22**, závislost konverze [%] na čase, poměr zastoupení jednotlivých distereoizomerů **23–25** a pozorované rychlostní konstanty.

Tab. 1 ^1H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v MeOD- d_4 /TEA

20			21			22		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
2	43	3,6	5	3	3:1	3	16	1,7:1
5	62	1,5:1	20	8	3:1	20	47	1,8:1
10	87	2,9:1	45	17	3:1	30	56	1,8:1
15	92	3,3:1	60	21	3:1	40	64	1,8:1
20	97	3,6:1	90	30	3:1	50	70	1,8:1
25	98	3,6:1	120	37	3:1	60	76	1,8:1
			155	45	3:1	70	80	1,8:1
			210	55	3:1	80	84	1,8:1
			1280	99	3:1	90	86	1,8:1
			1590	99	3:1	100	88	1,8:1
						140	95	1,8:1
						270	99	1,8:1
						425	99	1,8:1
						1607	99	1,8:1
k [s^{-1}]	0,1633	0,1332	k [s^{-1}]	0,003964	–	k [s^{-1}]	0,02381	–

Tab. 2 ^1H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v DMSO- d_6 /TEA

20			21			22		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
2	100	2,5:1	5	8	1,9:1	3	17	1:1,6
40	100	2,8:1	20	21	2,3:1	5	25	1:1,5
			45	39	2,7:1	8	35	1:1,6
			70	54	2,8:1	12	40	1:1,3
			160	80	3:1	15	45	1:1,2
			220	87	3,1:1	17	51	1:1,2
			280	90	3:1	20	55	1:1,2
			345	94	2,9:1	23	60	1:1,1
			1440	100	2,5:1	26	64	1:1
			1680	100	2,4:1	29	69	1:1
			2825	100	2,4:1	32	72	1:1
						35	75	1:1
						40	79	1:1
						45	83	1:1
						50	86	1,1:1
						55	88	1,1:1
						60	90	1,1:1
						65	91	1,1:1
						140	100	1,2:1
						1333	100	1,3:1
k [s^{-1}]	–	–	k [s^{-1}]	0,01132	0,0301	k [s^{-1}]	0,03609	0,03583

Tab. 3 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v MeCN-*d*₃/TEA

20			21			22		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
2	59	1,7:1	3	1	1,2:1	3	15	1,6:1
4	86	2,5:1	25	9	1,2:1	10	26	1,4:1
7	95	2,8:1	81	21	1,5:1	20	38	1,4:1
10	98	2,9:1	141	33	1,6:1	30	47	1,4:1
20	100	2,9:1	190	41	1,8:1	40	56	1,3:1
40	100	2,9:1	1020	91	2,3:1	50	61	1,3:1
60	100	2,9:1	1200	95	2,3:1	60	69	1,4:1
130	100	2,9:1	1440	97	2,3:1	70	71	1,3:1
1140	100	3:1	10080	100	2,2:1	80	75	1,3:1
						90	79	1,3:1
						110	85	1,3:1
						130	87	1,4:1
						140	88	1,4:1
						150	89	1,4:1
						260	97	1,3:1
						415	99	1,3:1
						1585	98	1,3:1
						2850	98	1,3:1
<i>k</i> [s ⁻¹]	0,5370	0,5384	<i>k</i> [s ⁻¹]	0,002767	0,00399	<i>k</i> [s ⁻¹]	0,01737	–

Tab. 4 ¹H NMR kinetická studie cyklizace látky **20** v MeCN-*d*₃/pyridin, NMF a látky **21** v MeCN-*d*₃/2× TEA

20-Py			20-NMF			21-2xTEA		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
120	4	1:1,3	60	24	1:1,2	5	2	1,4:1
285	4	1:1,4	120	64	1,6:1	20	9	1,4:1
480	4	1:1,6	1080	100	3:1	45	19	1,6:1
1370	4	1:1,7	1620	100	3:1	70	29	1,7:1
2940	5	1:2				160	54	2:1
4245	6	1:1,8				220	66	2,1:1
8640	7	1:1,7				280	74	2,2:1
11400	7	1:1,5				345	83	2,3:1
20040	10	1:1,4				1440	98	2,3:1
<i>k</i> [s ⁻¹]	8,7E-6	0,00746	<i>k</i> [s ⁻¹]	0,03609	0,5384	<i>k</i> [s ⁻¹]	0,005080	0,00399

Tab. 5 ^1H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v CDCl_3/TEA

20			21			22		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
3	41	3,6:1	20	1	1,2:1	45	17	1,3:1
8	61	4,2:1	45	2	1,5:1	135	32	1,3:1
13	75	4,5:1	70	3	1,7:1	215	43	1,2:1
18	86	4,7:1	160	5	2,2:1	330	57	1,3:1
23	89	4,8:1	220	7	2,3:1	435	65	1,3:1
28	95	4,8:1	345	11	2,7:1	1285	87	1,2:1
33	97	4,8:1	1440	36	3,1:1	1750	88	1,2:1
38	98	4,9:1	1800	43	3,2:1	2895	90	1,2:1
43	99	4,9:1	2830	58	3,2:1	4270	89	1,3:1
1140	100	4,9:1	30240	100	3,2:1	8554	88	1,2:1
k [s^{-1}]	0,08747	0,1225	k [s^{-1}]	0,00032	0,00440	k [s^{-1}]	0,002785	–

Tab. 6 ^1H NMR kinetická studie cyklizace látek **20–22** v $\text{C}_6\text{D}_6/\text{TEA}$

20			21			22		
Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>	Čas [min]	Konverze [%]	Poměr <i>cis/trans</i>
2	5	1:1,5	60	0	0	50	13	1:1
10	9	1:1	150	0	0	140	23	1,1:1
60	47	3,4:1	230	2	1:1,5	220	33	1,2:1
120	80	4,6:1	420	2	1:1,1	345	44	1,2:1
1440	100	5,6:1	1320	5	1,5:1	420	49	1,2:1
			2925	13	2,5:1	1300	80	1,2:1
			4210	19	3,4:1	1755	88	1,2:1
			8566	34	3,7:1	2898	92	1,3:1
			11400	44	4,1:1	4200	92	1,3:1
			20160	68	4,2:1	8557	88	1,3:1
k [s^{-1}]	0,011554	0,01383	k [s^{-1}]	3,5E-5	0,000301	k [s^{-1}]	0,001696	–